

VICTOR MICHELON ALVES

**VARIAÇÕES FENOTÍPICAS DE *BIOPYRELLIA BIPUNCTA* (WIEDEMANN) E  
*POLIETINA ORBITALIS* (STEIN) (DIPTERA: MUSCIDAE): UMA  
ABORDAGEM MORFOMÉTRICA**

**CURITIBA**

**2014**

VICTOR MICHELON ALVES

**VARIAÇÕES FENOTÍPICAS DE *BIOPYRELLIA BIPUNCTA* (WIEDEMANN) E  
*POLIETINA ORBITALIS* (STEIN) (DIPTERA: MUSCIDAE): UMA  
ABORDAGEM MORFOMÉTRICA**

Dissertação apresentada a Coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Claudio José Barros de Carvalho

Co-orientador: Prof. Dr. Mauricio Osvaldo Moura


**CURITIBA**

**2014**

VICTOR MICHELON ALVES

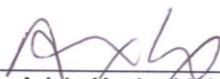
"VARIÇÕES FENOTÍPICAS DE *BIOPYRELLIA BIPUNCTA* (WIEDEMANN) E  
*POLIETINA ORBITALIS* (STEIN) (DIPTERA: MUSCIDAE): UMA ABORDAGEM  
MORFOMÉTRICA"

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de "Mestre  
em Ciências Biológicas", no Programa de Pós-graduação em Ciências  
Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal  
do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



---

Prof. Dr. Claudio José Barros de Carvalho (Orientador)  
(UFPR)



---

Prof. Dr. Arício Xavier Linhares  
(UNICAMP)



---

Prof. Dr. Silvio Shigueo Nihei  
(USP)

Curitiba, 25 de fevereiro de 2014.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao professor Dr. Claudio José Barros de Carvalho por ter me dado a oportunidade de ser seu aluno nesses dois anos.

Ao professor Dr. Maurício Osvaldo Moura pela co-orientação e pela grande ajuda nas análises morfométricas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa, sem a mesma não poderia ter desenvolvido este trabalho.

Aos docentes do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia) da Universidade Federal do Paraná, por terem sido fundamentais na construção da minha formação científica e acadêmica.

A Universidade Federal do Paraná juntamente com o Laboratório de Biodiversidade e Biogeografia de Diptera, por terem fornecido a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

A coordenação do curso por ter financiado a minha ida ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). E aos curadores do INPA: Augusto L. Henriques e José A. Rafael.

Ao chá das 5, por todas as discussões e críticas construtivas a respeito deste trabalho.

Ao doutorando Marcelo Costa pela ajuda com as análises morfométricas, e a doutoranda Diana Ochoa pela ajuda com a parte morfológica (embora não utilizada).

Ao professor Dr. Arício Xavier Linhares, por ter fornecido parte do material deste estudo.

Aos meus pais Salete e Luis, minha irmã Sarah, por terem me incentivado na realização do mestrado.

A minha namorada Liziane por sempre estar me apoiando e ajudando, e por ter aguentado a distância de nos vermos apenas nos finais de semana (ida e volta 966km!!!).

Aos meus colegas Bruno Ferreira e Gustavo Ferro, pela amizade nestes dois anos.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	6
LISTA DE TABELAS .....	7
LISTA DE FIGURAS .....	8
PREFÁCIO .....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	13
CAPÍTULO I.....	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT .....	16
1. INTRODUÇÃO .....	17
2. OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo Geral.....	19
2.2 Objetivos Específicos .....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	20
3.1 Espécimes utilizados.....	20
3.2 Preparo do material .....	21
3.2.1 Corte das lamínulas .....	21
3.2.2 Preparo das asas .....	21
3.2.3 Determinação dos marcos anatômicos .....	21
3.2 Métodos de análise dos dados .....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
5. CONCLUSÕES.....	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
CAPÍTULO II.....	48
RESUMO .....	49
ABSTRACT .....	50
1. INTRODUÇÃO .....	51
2. OBJETIVOS.....	53
2.1 Objetivo Geral.....	53
2.2 Objetivos Específicos .....	53
3.1 Espécimes utilizados.....	54
3.2 Preparo do Material .....	55

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
5. CONCLUSÕES.....	72
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73
ANEXO I.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS

### **Veias**

A<sub>1</sub>-Anal 1.

C - Costa

CuA - Cubital anterior.

CuA<sub>1</sub>- Cubital anterior 1.

CuA<sub>2</sub>-Cubital anterior 2.

M - Média.

R - Radial.

R<sub>1</sub>- Radial anterior 1.

R<sub>2+3</sub>- Radial 2+3.

R<sub>4+5</sub>-Radial 4+5.

Sc - Subcostal.

### **Veias transversais**

bm-cu - Basal mediana cubital.

dm-cu - Distal mediana cubital.

h - Humeral.

r-m - Rádio mediana.

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I.

**Tabela I.** Listagem dos 15 marcos anatômicos utilizados para descrever a forma da asas em *Polietina orbitalis*.....22

**Tabela II.** Resumo da Análise das Variáveis Canônicas entre as populações de *P. orbitalis*. Observar os dois primeiros eixos representando conjuntamente 81% da variação..... 27

**Tabela III.** Valores de classificação correta das populações de *P. orbitalis* estudadas. Notar o menor valor de alocação de 95% e o maior de 99%..... 31

**Tabela IV.** Resultado da PLS entre a forma e variáveis ambientais. Nota-se a PLS1 com maior valor que as demais e também com maior covariação..... 33

### CAPÍTULO II.

**Tabela I.** Listagem dos 15 marcos anatômicos utilizados para descrever a forma das asas em *B.bipuncta*.....56

**Tabela II.** Análise das Variáveis Canônicas entre as populações de *B. bipuncta* estudadas. Observar os dois primeiros eixos representando conjuntamente 82% da variação.....58

**Tabela III.** Valores de classificação correta das populações de *B. bipuncta* estudadas. Notar o intervalo de alocação entre 78 e 94%.....63

**Tabela IV.** Resultado da PLS entre a forma e as variáveis ambientais com altitude. Notar a PLS1 com maior valor que as demais.....65



## LISTA DE FIGURAS

### PREFÁCIO.

**Figura I.** Publicações de trabalhos referentes à morfometria geral (azul) e geométrica (vermelho). Notar aumento da produção no decorrer do tempo.....12

### CAPÍTULO I.

**Figura I.** Distribuição geográfica das populações de *P. orbitalis* utilizadas no estudo: 1. Mbaracayú (Paraguai, -25°17' -54 °49'); 2. Fênix (-23°54' -51°58'); 3. Jundiá do Sul (-23°26' -50°14'); 4. Guarapuava (-25°23' -51°27'); 5. Ponta Grossa (-25°05' -50°09'); 6. Colombo (-25°17' -49°13').....20

**Figura II.** Vista dorsal da asa direita de *Polietina orbitalis* com os 15 marcos anatômicos posicionados (A) e forma geral da asa a partir da posição dos 15 marcos (B). Os pontos representam os marcos e a numeração a ordem de introdução dos mesmos. Fonte: Acervo pessoal.....23

**Figura III.** Variação do tamanho do centroide (mm) das asas das populações de *P. orbitalis* estudadas. Notar todas as populações apresentando valores semelhantes.....26

**Figura IV.** Posição das populações de *Polietina orbitalis* no espaço formado pelos dois primeiros eixos canônicos. As elipses indicam intervalo de confiança de 95%.....28

**Figura V.** Reconstrução gráfica da forma da asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no primeiro eixo canônico (CV1) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da variável canônica.....29

**Figura VI.** Reconstrução gráfica da forma das asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no segundo eixo canônico (CV2) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da variável canônica.....30

**Figura VII.** Dendograma de similaridade fenotípica gerado pela distância de Procrustes, notar os dois maiores agrupamentos formados. 1. Mbaracayú; 2. Fênix; 3. Jundiá do Sul; 4. Guarapuava; 5. Ponta Grossa; 6. Colombo.....32

**Figura VIII.** Gráfico da PLS. Analisar os agrupamentos formados, com Colombo, Guarapuava e Ponta Grossa respondendo negativamente e Fênix, Jundiaí do Sul e Mbaracayú respondendo positivamente. 1. Mbaracayú; 2. Fênix; 3. Jundiaí do Sul; 4. Guarapuava; 5. Ponta Grossa; 6. Colombo.....34

**Figura IX.** Gráfico comparativo da PLS (com altitudes) com a CVA (CV1). Asa com o fenótipo alargado associado a populações com altitude máxima de 700m (A), asa com o fenótipo afilado associado a populações com altitudes superiores a 900m (B). 1. Mbaracayú; 2. Fênix; 3. Jundiaí do Sul; 4. Guarapuava; 5. Ponta Grossa; 6. Colombo.....36

## CAPÍTULO II.

**Figura I.** Distribuição geográfica das populações de *B. bipuncta* utilizadas no estudo: 1. Jundiaí do Sul (-23°26' -50°14'); 2. Campinas (-22°54' -47°03'); 3. Linhares (-19°23' -40°04'); 4. Vilhena (-12°44' -60°08'); 5. Repartimento (-04°22' -50°01'); 6. Ilha de Maracá (03°41' -61°66').....54

**Figura II.** Vista dorsal da asa esquerda de *Biopyrellia bipuncta* com os 15 marcos anatômicos posicionados (A) e forma geral da asa a partir da posição dos 15 marcos (B). Os pontos representam os marcos e a numeração a ordem de introdução dos mesmos. Fonte: Acervo pessoal.....55

**Figura III.** Variação do tamanho do centróide (mm) das populações de *B. bipuncta* estudadas. Notar todas as populações com valores semelhantes. CAM: Campinas, JUN: Jundiaí do Sul, MAR: Ilha de Maracá, REP: Repartimento, VIL: Vilhena.....57

**Figura IV.** Posição das populações de *B. bipuncta* no espaço formado pelos dois primeiros eixos canônicos. As elipses indicam intervalo de confiança de 95.....59

**Figura V.** Reconstrução gráfica da forma da asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no primeiro eixo canônico (CV1) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da variável canônica.....60

**Figura VI.** Reconstrução gráfica da forma das asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no segundo eixo canônico (CV2) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da variável canônica.....62

**Figura VII.** Dendograma de similaridade fenotípica gerado pela distância de Procrustes, notar os dois maiores agrupamentos formados. 1. Jundiaí do Sul; 2.Campinas; 3.Linhares; 4.Vilhena; 5. Repartimento; 6. Ilha de Maraca.....64

**Figura VIII.** Gráfico da PLS. Observar os agrupamentos formados com Campinas e Jundiaí do Sul respondendo positivamente, Linhares não respondendo a análise, Repartimento e Ilha de Maracá respondendo negativamente a análise. 1. Jundiaí do Sul; 2.Campinas; 3.Linhares; 4.Vilhena; 5. Repartimento; 6. Ilha de Maraca.....67

**Figura IX.** Construção aproximada dos padrões alares associados com a distribuição geográfica. Asa da população 1, com CV1 e CV2 positivas (A); asa das populações 2 e 3 com CV1 e CV2 negativas (B); asa das populações 4,5 e 6 com CV1 positiva e CV2 negativa (C). 1. Jundiaí do Sul; 2.Campinas; 3. Linhares; 4.Vilhena; 5. Repartimento; 6. Ilha de Maracá.....68

## PREFÁCIO

A descrição da morfologia dos organismos tem sido uma característica central da biologia a séculos. Os primeiros naturalistas tinham como objetivo quantificar a variação morfológica entre os organismos (Moraes 2003) utilizando-a como base para os primeiros estudos de classificação taxonômica, de processos ecológicos e para a compreensão da diversidade biológica (Adams et al. 2004; Peres-Neto 1995).

Porém, a variação morfológica pode ser muito sutil e de difícil detecção através de observações normais, sendo necessária a utilização de ferramentas e técnicas acessórias para quantificar e avaliar a diferença entre os agrupamentos estudados. E, neste contexto, a morfometria vem se destacando como uma das ferramentas que podem auxiliar na análise da variação da morfologia, principalmente relacionada a forma e tamanho dos organismos.

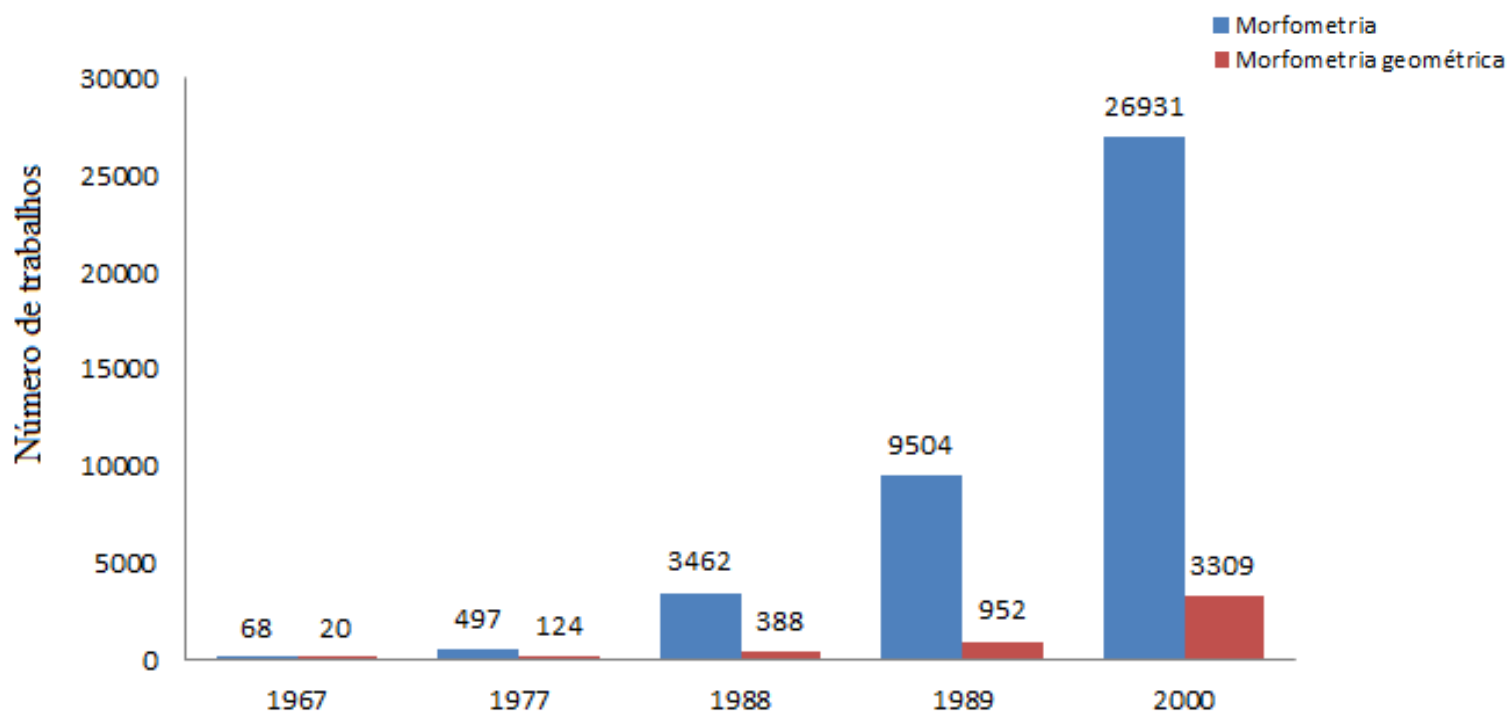
Os primeiros trabalhos de morfometria surgiram com a biometria, principalmente com os trabalhos de Walter F.R. Weldon, que começou a estudar o tamanho dos organismos com base nos métodos estatísticos desenvolvidos por Karl Pearson e Francis Galton (Moraes 2003).

Nestes primeiros trabalhos morfométricos não eram capturadas as informações de forma, mas apenas o tamanho, porque levava em consideração apenas as distâncias lineares (Moraes 2003). Posteriormente, com o objetivo de resolver esses problemas, foi desenvolvido a morfometria geométrica por D'Arcy Thompson (1917), no clássico livro "On growth and form". Entretanto, apesar desses conceitos de forma geométrica servirem como base para técnicas mais acuradas que foram desenvolvidas posteriormente, este sistema de deformação de coordenadas não era uma técnica satisfatória (Daly 1985).

Kendall e outros pesquisadores, em meados de 1980 desenvolveram uma das técnicas mais importantes dentro da morfometria geométrica, que posteriormente iria liderar a chamada "revolução da morfometria" na década de 1990 (Adams et al. 2004). Eles desenvolveram a técnica da análise da forma a partir da utilização de *landmarks* ou marcos anatômicos, sendo que um *landmark* é um ponto no espaço definido pelas coordenadas cartesianas bidimensionais (x,y) ou tridimensionais (x,y,z) (Bookstein 1991).

Com este método é possível obter a informação precisa sobre a forma do organismo, e de sua variação, sendo que os efeitos de orientação e tamanho são

anulados. As vantagens deste tipo de análise tornaram-se evidente na década de 1990, e os pesquisadores das mais diversas áreas começaram a utilizar a forma para elucidar questões tanto taxonômicas quanto ecológicas e evolutivas (Adams et al.2004). Houve um aumento significativo de publicações na área, refletindo a importância da morfometria e a capacidade de sua utilização em várias áreas do conhecimento (Figura I).



**Figura I.** Publicações de trabalhos referentes à morfometria geral (azul) e geométrica (vermelho). Notar aumento da produção no decorrer do tempo.

**FONTE:** CAPES periódicos

Em Muscidae, especificamente em relação a aplicação de estudos morfométricos, o primeiro trabalho foi de Greenham & Hughes (1971) com estudos de padrões clinais de *Musca vetustissima* (Walker). Posteriormente, surgiram vários outros trabalhos (Black IV & Krafur 1986;; Bryant & Turner 1987; Ribeiro et al. 1995) abordando apenas a relação de tamanho, utilizando a morfometria tradicional.

Seguindo este contexto, neste estudo foram utilizadas técnicas de morfometria geométrica na família, com o objetivo de responder se diferentes populações de *Polietina orbitalis* (Stein 1904) e *Biopyrellia bipuncta* (Wiedemann 1830) podem ser diferenciadas fenotipicamente usando como característica a morfometria da asa.

O trabalho foi dividido em dois capítulos abordando as espécies trabalhadas:

1. Efeito das variáveis ambientais na variação fenotípica alar de *Polietina orbitalis* (Stein) (Diptera:Muscidae).
2. Variações no fenótipo alar associados a distância geográfica de *Biopyrellia bipuncta* (Wiedemann) (Diptera:Muscidae).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Ital J Zool* 71: 5-16. doi: 10.1080/11250000409356545

Bookstein, FL (1991) Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology. Cambridge, Cambridge University Press.

Black IV WC, Krafur ES (1986) Geographic variation in the house fly size: adaptation or larval crowding? *Evolution* 40:204-206.

Bryant EH (1977) Morphometric adaptation on the house fly *Musca domestica* L., in the United States. *Evolution* 31: 580-596.

Bryant EH, Turner CR (1978) Comparative morphometric adaptation of the housefly and face fly in the United States. *Evolution* 32:759-770.

Daly HV (1985) Insect Morphometrics. *Annu Rev Entomol* 30: 415-438. doi: 10.1146/annurev.en.30.010185.002215

Greenham, PM, Hughes D (1971) Investigation of a morphometric cline in bushfly populations from north to south in Australia. *Austr J Entomol* 10: 261-264. doi: 10.1111/j.1

Kendall, DG (1980) Shape-manifolds, Procrustean metrics and complex projective spaces. *Bull London Math Soc* 16:81-121. Doi: 440-6055.1971.tb00038.x

Moraes DA (2003) A morfometria geométrica e a “revolução da morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *Bioletim* 3:1-5.

Peres-Neto PR (1995) Introdução a análises morfométricas. *Oecol bras* 2: 57-89.

Ribeiro SC, AM Sousa, Lomônaco C (1995) Influência de fatores ambientais na determinação do tamanho de *Musca domestica* L. (Diptera:Muscidae). *Rev Bras Biol* 55:633-637.

Weldon WFR (1895) Remarks on Variation in Animals and Plants. *Proc R Soc* 57:379-382.

## **CAPÍTULO I**

EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS NA VARIAÇÃO FENOTÍPICA  
ALAR DE *POLIETINA ORBITALIS* (STEIN) (DIPTERA:MUSCIDAE)

## RESUMO

### **Efeito de variáveis ambientais na variação fenotípica alar de *Polietina orbitalis* (Stein) (Diptera:Muscidae)**

Este trabalho objetivou avaliar e quantificar a variação morfométrica alar de diferentes populações de *Polietina orbitalis* (Stein) (Diptera: Muscidae). Foram utilizados 170 indivíduos de seis populações provenientes das localidades de: Colombo– PR(n=24), Fênix– PR(n=30), Guarapuava– PR(n=30), Jundiáí do Sul – PR(n=28), Mbaracayú – Paraguai (n=28)e Ponta Grossa – PR(n=30). Para as análises morfométricas foram distribuídos 15 *landmarks* na região dorsal da asa direita dos exemplares fêmeas da espécie. Para análise da forma foram utilizadas diferentes técnicas multivariadas (GPA, MANOVA, Análise Discriminante, Análise de Variáveis Canônicas), e para o tamanho foi utilizado o valor do centroide. Para avaliar se há efeito ambiental, altitudinal e/ou geográfica na forma da asa foram testadas 19 variáveis ambientais, latitude e longitude, utilizando a técnica PLS. Em relação ao tamanho foi constatado que todas as populações possuem valores semelhantes não diferindo entre si. Já em relação a forma, todas as populações possuem diferenças entre si com alterações principalmente na largura da asa. E entre as variáveis testadas foi observada uma correlação significativa com a altitude, onde em altitudes menores as populações apresentaram a asa alargada e em maiores altitudes a asa apresentou-se afilada. Uma possível interferência ecológica é discutida.

**Palavras-chave:** Análise discriminante, Morfometria geométrica, *Polietina orbitalis*.



## ABSTRACT

### **The effect of environmental variables on the wings phenotypic variation of *Polietina orbitalis* (Stein) (Diptera: Muscidae)**

The objective of this work was to evaluate and quantify the wing morphometric variation of *Polietina orbitalis* (Stein) (Diptera: Muscidae) in different populations. 170 individuals were utilized from six populations, five collected in Brazil, coming from Colombo – PR (n=24), Fênix – PR (n=30), Guarapuava – PR (n=30), Jundiaí do Sul – PR (n=28), Ponta Grossa – PR (n=30) and one population from Paraguay Mbaracayú (n=28). 15 landmarks were distributed for the morphometric analyses in the right wing's dorsal region from the female subjects of the specie, different multivariate techniques were utilized for the form evaluation (GPA, MANOVA, Discriminant analysis , Canonical variables analysis), and for the size, the centroid value was considered . To evaluate if there is environmental, altitudinal and/or geographical interference in the form of the wing, 19 environmental variables were tested, height and length, utilizing the PLS technique. Regarding the size, it was established that all the populations presented similar sizes, not differing among themselves; regarding the form, all the populations presented differences among themselves mainly with alterations in the width of the wing, from all the tested variables it was established a correlation with altitude, rain and temperature was observed. The most effect significant altitudinal was in the smaller altitudes where the populations presented a wider wingspan, and in bigger altitudes, the wing was narrower, indicating a possible ecological interference.

**Keywords:** Discriminant analysis, Geometric morphometric, *Polietina orbitalis*.

## 1. INTRODUÇÃO

O ambiente exerce dois importantes papéis no processo evolutivo: (1) estabelece a relação entre o fenótipo de um indivíduo e o seu *fitness*; (2) interage com o processo de desenvolvimento e desempenha um papel na determinação do fenótipo (Scheiner 1993). Alguns tipos de mudanças do fenótipo são de natureza obrigatória, principalmente as associadas à redução da oferta de alimento (Wells & Pigliucci 2000). Já outras, favorecem uma vantagem na reprodução ou sobrevivência em decorrência das alterações ambientais (Sultan 1995). Este tipo de alteração fenotípica pode ser muito sutil e de difícil detecção e, neste sentido, a morfometria pode ser uma ferramenta útil na detecção destas variações, principalmente as relacionadas com alterações no tamanho e a na forma dos organismos.

A morfometria é o campo de análise da estatística multivariada que busca responder questões de cunho morfológico e adaptativo das estruturas (Slice 2007), sendo que a forma de uma estrutura é o resultado de diversas respostas alométricas durante o seu desenvolvimento (Peres-Neto 1995). Neste sentido, o estudo morfométrico pode ser utilizado com o objetivo de elucidar questões fazendo a diferenciação de grupos de organismos que variam em forma e tamanho (Strauss & Bookstein 1982).

A morfometria se distingue em duas vertentes: tradicional e geométrica; a tradicional utiliza distâncias e medidas como objetivo de avaliar como e quanto essas medidas variam e como estão relacionadas entre si (Moraes 2003). Este tipo de abordagem possui alguns problemas, pois não há informações acerca da forma do organismo, não sendo possível analisar graficamente as formas de medidas de distâncias (Adams et al. 2004). Estudos comparativos entre essas abordagens demonstraram que a morfometria geométrica é mais sensível na distinção de grupos (Bomfim 2011).

Na abordagem geométrica não são utilizadas distâncias e medidas, mas sim posições geométricas de uma configuração de marcos anatômicos (*landmarks*) (Bookstein 1991). O *landmark* corresponde a um ponto no espaço definido pelas coordenadas cartesianas bidimensionais (x,y), ou tridimensionais (x,y,z) que descrevem sua posição geométrica no espaço e podem ser divididos em três tipos: I- Justaposição de tecidos, II- Pontos de máxima curvatura, e III- Pontos extremos (Bookstein 1991). A

partir do *landmark* é possível estudar a geometria das formas utilizando as coordenadas, obtidas quando os pontos são localizados em um sistema de eixos cartesianos (Adams et al. 2004). Isto permite identificar as variações de forma entre os diferentes exemplares em estudo (Rohlf 1998). Como os organismos são multidimensionais, são necessários vários vetores para descrever razoavelmente a forma de um ser vivo e, neste sentido, os estudos morfométricos são desenvolvidos através de ferramentas multivariadas (Peres-Neto 1995), destacando-se a análise de componentes principais (PCA) e a análise das funções discriminantes (James & McCulloch 1990).

É possível observar a utilização do estudo morfométrico para vários fins em dípteros, como caracterização de ovos (Alencar et al. 2003), efeito de variáveis ambientais e da competição sobre a forma da asa (Aytekin 2009), diferenciação populacional (Belen et al. 2004), padrões de assimetria (Costa 2008), diferenciação sexual (Devicari et al. 2011), discriminação de espécies (Lorenz et al. 2012), padrões etológicos associados a forma da asa e identificação de unidades crípticas (Marsteller et al. 2009), identificação de grupos de interesse forense (Silveira 2011), separação de estádios larvais (Zequi & Lopes 2007) e estudos de seleção sexual (Worthington 2012).

Portanto, dentro deste contexto, neste trabalho foram utilizadas técnicas de morfometria geométrica em diferentes populações de *Polietina orbitalis* (Stein). Esta espécie foi descrita a partir de uma fêmea cujo holótipo foi destruído, e um neótipo macho foi designado por Couri & de Carvalho (1997: 273). Posteriormente Nihei & de Carvalho (2004) sinonimizaram duas espécies com *P. orbitalis*, sendo elas: *Polietina distincta* Couri & Lopes 1987, e *Polietina ingrata* Couri 1982.

*Polietina orbitalis* foi escolhida para este estudo por ser a espécie mais comum do gênero, estar bem representada nas coleções e ter ampla área de distribuição, no Brasil existem registros da espécie para todos os estados da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste, na região Norte possui registros de ocorrência em Rondônia e no Nordeste nos estados de Alagoas, Maranhão e Pernambuco, na América Latina ocorre na Argentina, Bolívia, Peru e Paraguai. Como características, possui baixo índice de sinantropia (Uribe et al. 2010) e é caracterizada pela presença de quatro cerdas dorso centrais pós-suturais, duas cerdas ântero-ventrais na tíbia posterior, e presença de cerdas na borda supra-esquamal (Nihei & Carvalho 2007).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Determinar se as diferentes populações de *Polietina orbitalis* estudadas diferem fenotipicamente, usando como característica a morfometria da asa.

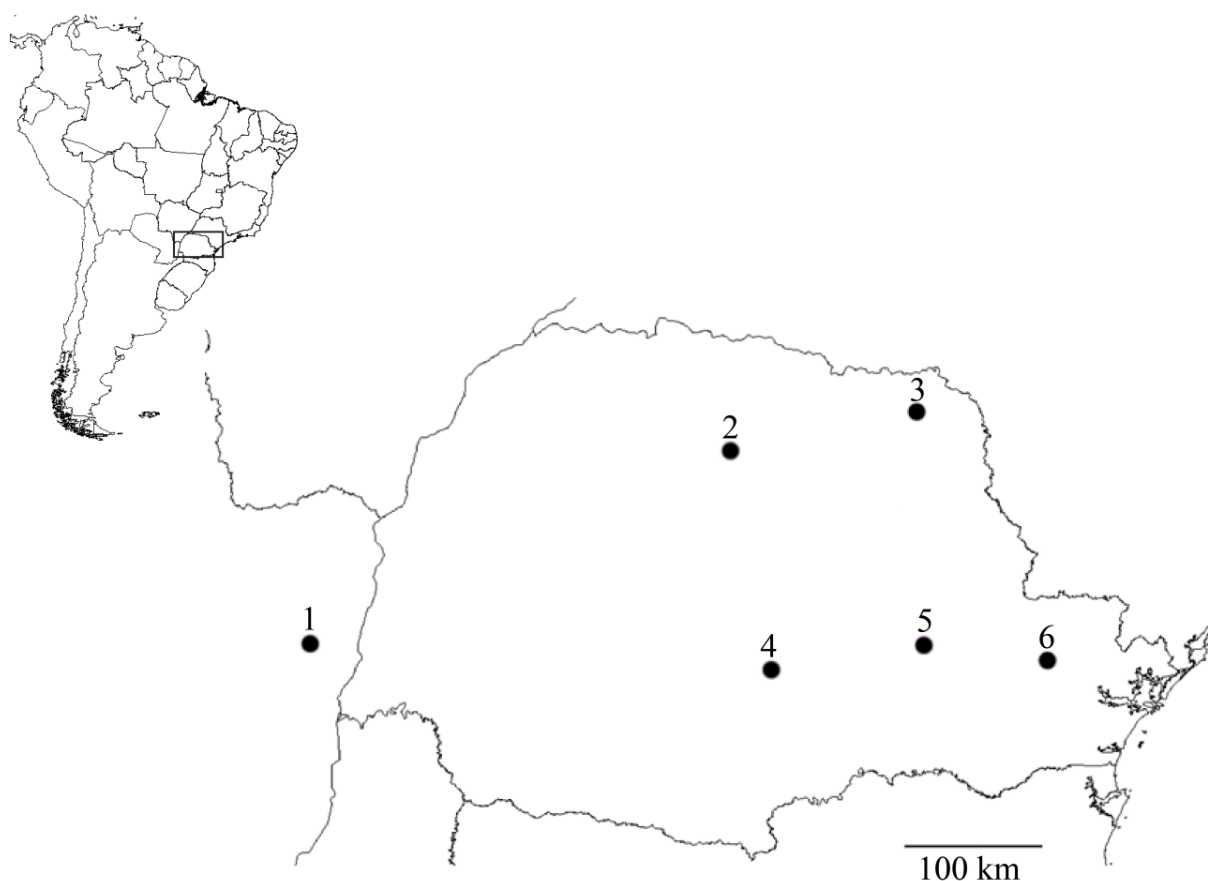
### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar o grau de variação fenotípica entre as populações.
- Testar se as diferenças nas variáveis ambientais entre as populações estudadas podem causar as diferenças morfológicas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Espécimes utilizados.

O material utilizado está depositado na coleção entomológica Pe. Jesus Santiago Moure pertencente ao departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. Na coleção existem cerca de 1600 exemplares de *Polietina orbitalis*, foram utilizados 170 espécimes fêmeas de seis regiões: Colombo (n=24), Fênix (n=30), Guarapuava (n=30), Jundiá do Sul (n=28), Mbaracayú (Paraguai, n=28) e Ponta Grossa (n=30)(Figura I).



**Figura I.** Distribuição geográfica das populações de *P. orbitalis* utilizadas no estudo: 1. Mbaracayú (Paraguai, -25°17' -54 °49'); 2. Fênix (-23°54' -51°58'); 3. Jundiá do Sul (-23°26' -50°14'); 4. Guarapuava (-25°23' -51°27'); 5. Ponta Grossa (-25°05' -50°09'); 6. Colombo (-25°17' -49°13').

## **3.2 Preparo do material**

### **3.2.1 Corte das lamínulas**

Foram utilizadas lamínulas de formato quadrado de 14x14mm para a montagem das lâminas permanentes e para o acondicionamento da asa. Porém as menores lamínulas comercializadas deste formato possuem tamanho de 18x18mm, então foi necessário cortar as mesmas para o correto redimensionamento, para isso foi utilizado uma caneta ponta de diamante Glascribe® e com o auxílio de um escalímetro as lamínulas foram redimensionadas para 14x14mm, ocupando assim menos espaço na coleção sem prejudicar o acondicionamento da asa.

### **3.2.2 Preparo das asas**

A asa direita dos exemplares foi retirada com o auxílio de pinça e estiletes, colocada em álcool absoluto por 20 minutos e depois em xilol por 10 minutos. Posteriormente foi feita a montagem permanente das asas entre lamínulas de 14x14mm utilizando Entellan®. A asa foi fotografada, na face dorsal, utilizando o equipamento de imagens Dino-Lite Pro® como aumento de 15x (quinze vezes). Após, as imagens foram digitalizadas e armazenadas no computador. Depois deste processo a lamínula contendo a asa foi colada em um cartão confeccionado com cartolina, e acondicionada no mesmo alfinete do espécime (Rafael 1986). Após estas etapas, o exemplar, juntamente com sua respectiva asa, foi devolvido a coleção onde encontra-se depositado.

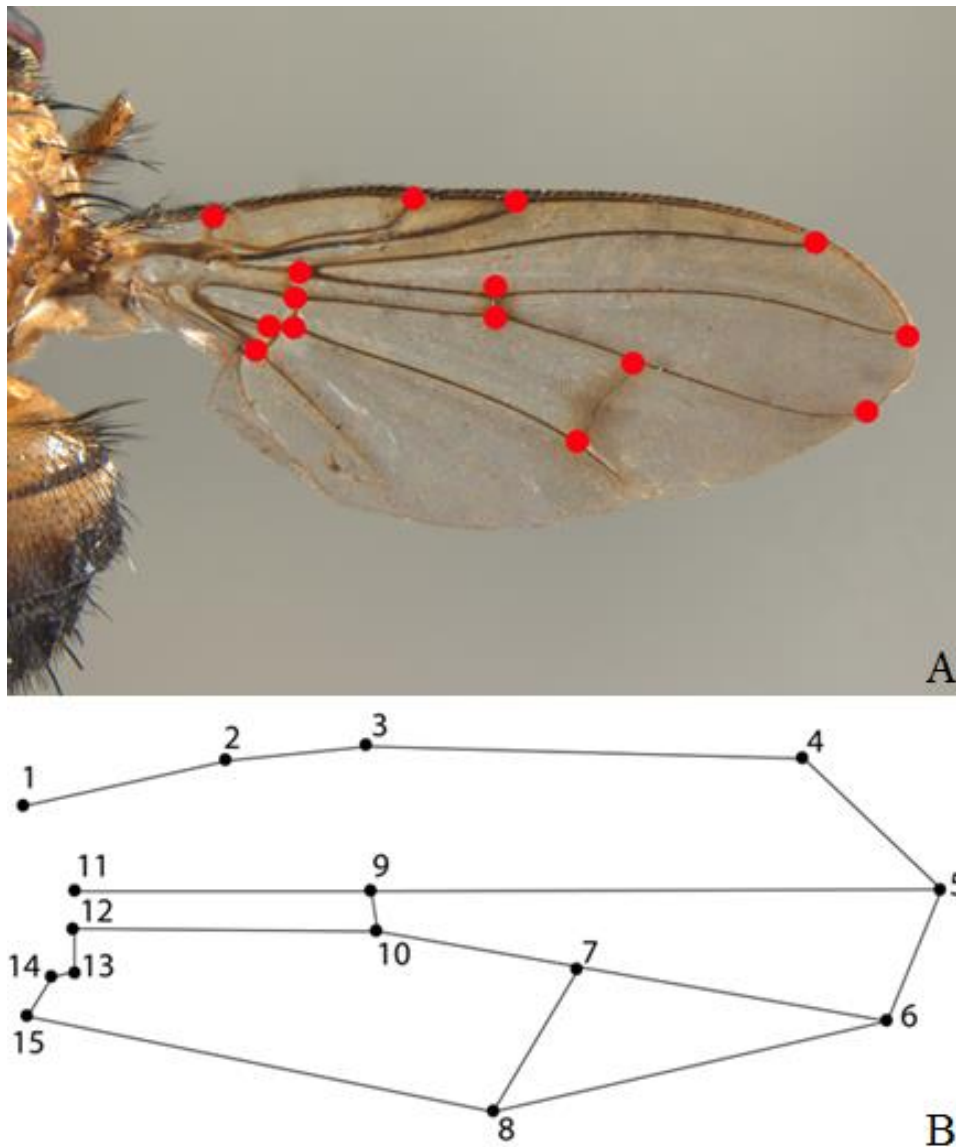
### **3.2.3 Determinação dos marcos anatômicos**

Em cada imagem de asa foram utilizados 15 marcos anatômicos do tipo I (Tabela I, Figura II), que são caracterizados por intersecções da venação. Para o posicionamento e marcação dos pontos anatômicos na imagem foi utilizado o pacote de *software* TPS (tpsDig e tpsUtil) (disponível em <http://life.bio.sunysb.edu/morph>). Os marcos foram inseridos na mesma ordem para cada indivíduo, requisito necessário para

estabelecer a homologia espacial dos marcos. As marcações ocorreram três vezes em cada população para determinar o grau de acurácia na marcação, as mesmas foram realizadas em dias distintos.

**Tabela I.** Listagem dos 15 marcos anatômicos utilizados para descrever a forma da asas em *Polietina orbitalis*.

Marco anatômico	Descrição (Intersecção entre veias)
1	C e h
2	C e Sc
3	C e R <sub>1</sub>
4	C e R <sub>2+3</sub>
5	C e R <sub>4+5</sub>
6	C e M
7	bm-cu e M
8	bm-cu e CuA <sub>1</sub>
9	R <sub>4+5</sub> e r-m
10	M e r-m
11	R <sub>2+3</sub> e R <sub>4+5</sub>
12	M e dm-cu
13	CuA <sub>1</sub> e dm-cu
14	CuA <sub>1</sub> e CuA <sub>2</sub>
15	A <sub>1</sub> e CuA <sub>2</sub>



**Figura II.** Vista dorsal da asa direita de *Polietina orbitalis* com os 15 marcos anatômicos posicionados (A) e forma geral da asa a partir da posição dos 15 marcos (B). Os pontos representam os marcos e a numeração a ordem de introdução dos mesmos. Fonte: Acervo pessoal.

### 3.2 Métodos de análise dos dados

Para a análise da forma foi utilizada a Análise Generalizada de Procrustes (GPA). A GPA é uma técnica multivariada exploratória que detecta variações entre configurações, envolvendo transformações para a análise da forma, removendo os efeitos de tamanho, translação e rotação (Rohlf & Slice 1990). Este método consiste em três etapas: primeiramente o efeito da posição é retirado através da superimposição da configuração das asas. Posteriormente é eliminado o efeito do tamanho,



proporcionalizando o tamanho do centroide, e por último as configurações são rotacionadas, eliminando assim o efeito da orientação. Após estas etapas, é fornecida uma configuração média da estrutura (configuração consenso) e a partir da mesma é possível avaliar a variação da forma na estrutura estudada.

Como medida geral de tamanho, foi utilizado o valor do centroide que é o “ponto médio” da estrutura estudada. Este valor é calculado pela raiz quadrada da soma das distâncias quadradas de um agrupamento de pontos até o seu centro (Monteiro & Reis 1999). Para testar a diferença de tamanho (variável resposta) entre as populações (variável preditora) foi usada a Análise de variância de um fator (ANOVA).

Para determinar a posição das populações no espaço multivariado de forma foi utilizada a Análise de Variáveis Canônicas (CVA). A CVA permite descrever e localizar as diferenças entre os grupos estudados, através de um conjunto de dados multivariados (Monteiro & Reis 1999). Para testar se existe diferença de forma entre as populações foi realizada uma análise de variância multivariada (MANOVA). Também foi analisada a distância de procrustes, que é mensurada através das coordenadas de procrustes e fornece a similitude fenotípica das populações formando agrupamentos.

Para definir os grupos de populações com base nos caracteres morfométricos foi utilizada uma Análise Discriminante. Para determinar a alocação dos grupos, baseada nos escores de uma função discriminante foi testada a validação cruzada. Assim, foi possível determinar a porcentagem de acerto, onde conhecendo-se *a priori* a variação morfométrica, de ao escolher um espécime aleatório acertar seu agrupamento, apenas com a análise morfométrica.

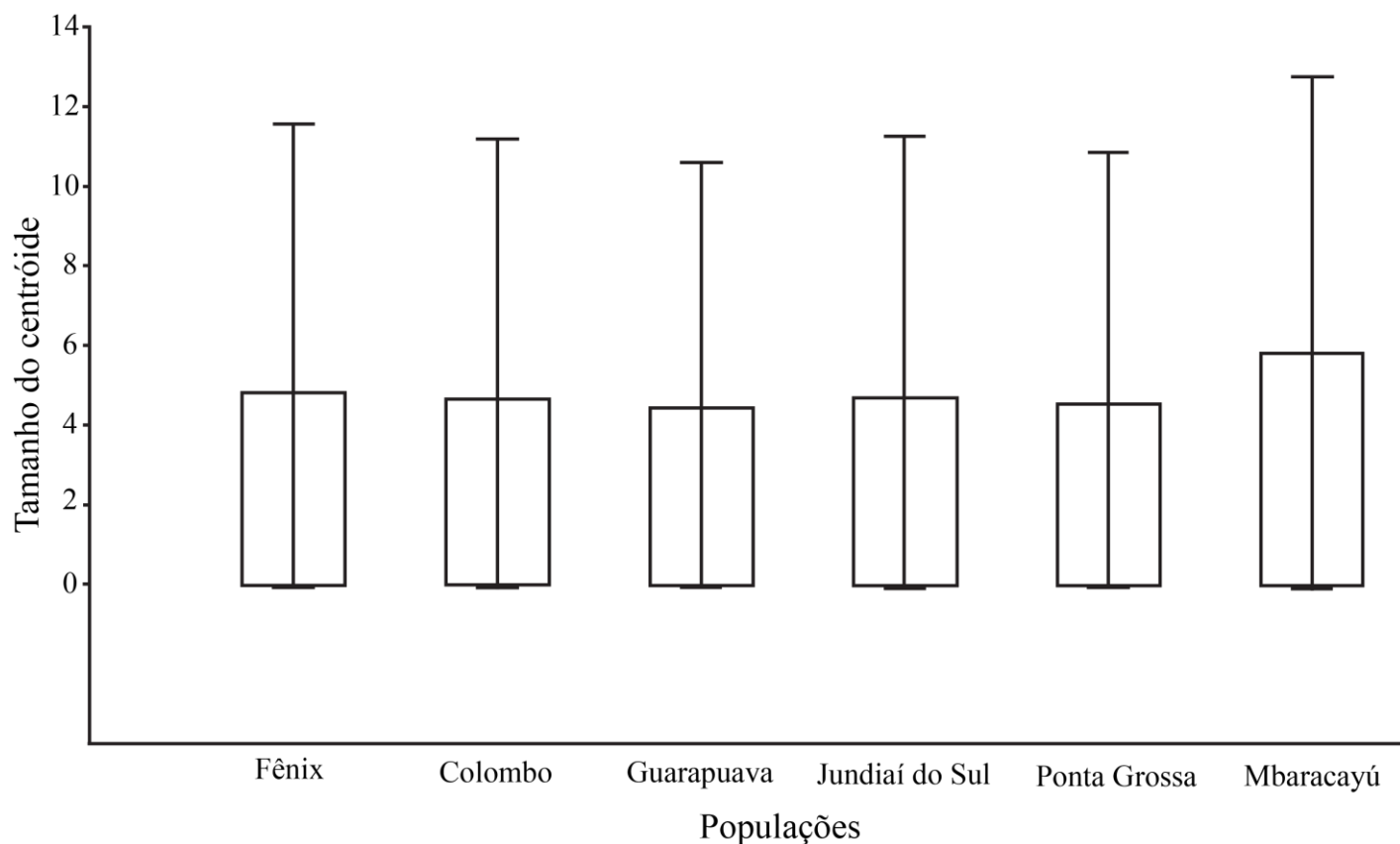
Foi utilizada a análise PLS com o objetivo de testar se as variações de forma poderiam ser produzidas por variações das variáveis abióticas nas populações. Esta análise testa a covariação entre blocos de variáveis, que neste caso são as coordenadas de Procrustes e as variáveis ambientais, tratando os dados de forma simétrica (Rohlf & Corti 2000). Foram utilizadas 19 variáveis, associadas basicamente com temperatura e precipitação: temperatura média anual, intervalo médio diurno, isothermalidade, sazonalidade de temperatura, temperatura máxima do mês mais quente, temperatura mínima do mês mais frio, intervalo da temperatura anual, temperatura média da estação mais úmida, temperatura média da estação mais seca, temperatura média da estação mais quente, temperatura média da estação mais fria, precipitação anual, precipitação do

mês mais frio, precipitação do mês mais seco, sazonalidade de precipitação, precipitação da estação mais úmida, precipitação da estação mais seca, precipitação da estação mais quente e precipitação da estação mais fria. Também foram utilizadas altitude, latitude e longitude, no intuito de verificar se há algum componente altitudinal e/ou geográfico interferindo na forma da asa. Estas variáveis foram obtidas no banco de dados worldclim (<http://www.worldclim.org>) e extraídos através do programa Diva-Gis®. Todas as análises foram realizadas com estas variáveis normalizadas.

Para as análises da CVA, Validação Cruzada e PLS foi utilizado o programa Morpho J® versão 1.05d (Klingenberg 2011), e para as análises do tamanho do centróide e MANOVA foi utilizado o programa Past® (Hammer et al. 2001).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente foi explorado o valor do centroide das populações, no intuito de verificar se as mesmas variam em tamanho (Figura III), é possível observar que o centroide de todas as populações apresentaram-se semelhantes, sendo que os tamanhos das asas variam entre 5 e 6mm e não diferem estatisticamente entre as populações ( $F = 0,004; p = 0,998$ ).



**Figura III.** Variação do tamanho do centróide(mm) das asas das populações de *P. orbitalis* estudadas. Notar todas as populações apresentando valores semelhantes.

Ao contrário do tamanho da asa, a forma da asa varia entre todas as populações ( $p < 0,001$ ;  $\lambda_{\text{Wilks}} = 0,030$ ;  $F = 15,78$ ). Ao reduzir o espaço de forma através da maximização da diferença entre os grupos foram determinados cinco eixos principais que explicam a variação nos dados. No entanto, as variáveis canônicas um (CV1) e a dois (CV2) conjuntamente explicam 81% da variação observada (Tabela II).

**Tabela II.** Resumo da Análise das Variáveis Canônicas entre as populações de *P. orbitalis*. Observar os dois primeiros eixos representando conjuntamente 81% da variação.

Variável Canônica	Autovalores	% de Variância	%de Variância Acumulada
CV1	2,088	51,871	51,871
CV2	1,212	30,122	81,993
CV3	0,357	8,873	90,867
CV4	0,227	5,641	96,507
CV5	0,140	3,493	100,000

A partir da posição das populações nos dois primeiros eixos canônicos (Figura IV) e das deformações potenciais das asas nos quadrantes (Figura V).É possível observar que as populações que se situam no quadrante positivo da CV1 (Ponta Grossa, Guarapuava e Colombo), possuem os marcos do bordo da porção anterior e posterior da asa (1,2,3,4,5, 6,8 e 15) deslocados para o centro da configuração, gerando assim uma configuração alar mais afilada.

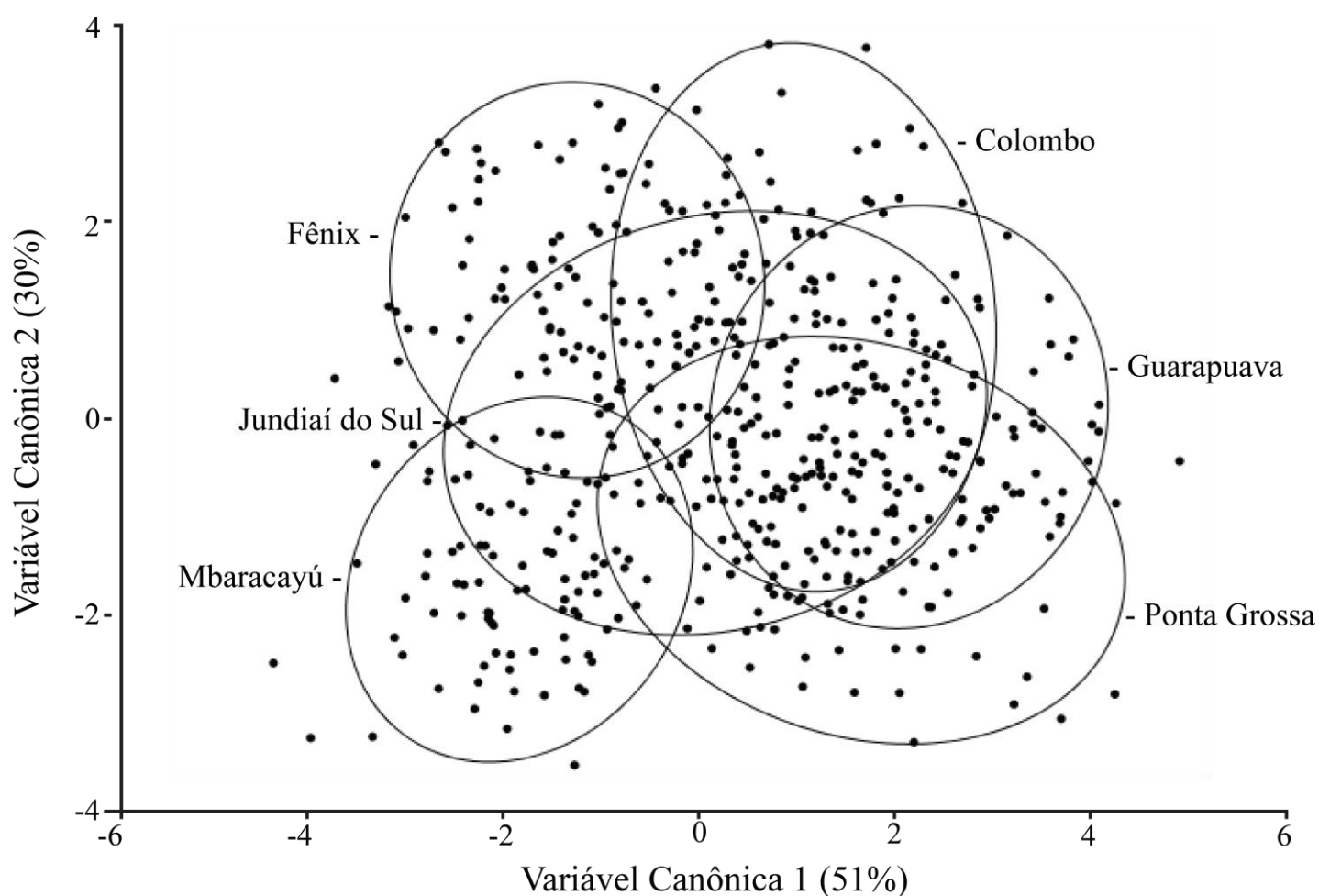
Os *landmarks* do terço basal e médio (9, 10, 11,12,14 e 15) apresentam-se deslocadas no sentido basal da asa. As intersecções das veias  $R_{2+3}$  e  $R_{4+5}$  com a Costa(marcos 4 e 5) deslocam-se no sentido posterior, fazendo com que essas regiões fiquem levemente abaixo da configuração média.

Em relação as veias transversais, a bm-cu (marcos 7 e 8) possui sua porção inferior deslocada basalmente, e sua extremidade superior apicalmente, e a r-m (marcos 9 e 10) desloca-se para a base alar. Este deslocamento antagônico dos extremos das veias transversais, gerou uma expansão da região entre as mesmas, causando a maior deformação na asa.E o deslocamento basal dos pontos da região basal, associadas ao deslocamento apical do marco anatômico 13 também causaram outro ponto de deformação alar.

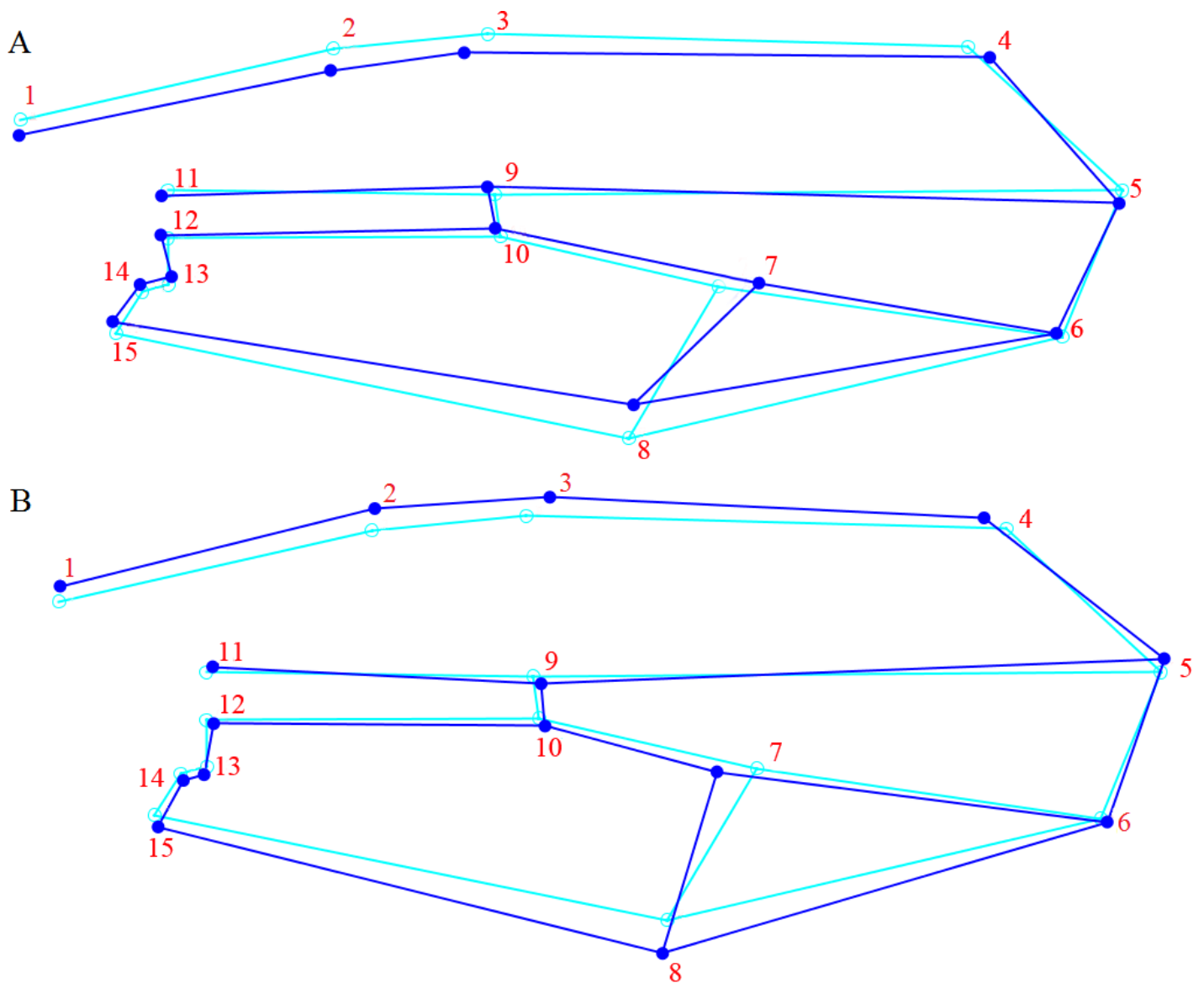
As populações que estão no quadrante negativo da CV1 (Mbaracayú e Fênix) (Figura IV e V) possuem os *landmarks* das porções anteriores e posteriores (1,2,3,4, 5,6,8 e 15) configurados acima da média, fazendo com que a asa tenha uma conformação mais alargada em relação a conformação consenso.

Este alargamento faz com que as veias transversais apresentem um deslocamento posterior, e associado com esse deslocamento a veia r-m (marcos 9 e 10) orienta-se apicalmente e a bm-cu (marcos 7 e 8) basalmente.

A venação do terço basal (marcos 11,12,14 e 15) projeta-se apicalmente e a venação da região apical (marcos 5 e 6) apresenta-se levemente expandida, fazendo com que a asa fique levemente maior na região apical. O deslocamento apical da r-m associado com o deslocamento basal da bm-cu, faz com que essa região entre as veias transversais sofra um estrangulamento, fazendo com que essa área medial da asa tenha a maior deformação



**Figura IV.** Posição das populações de *Polietina orbitalis* no espaço formado pelos dois primeiros eixos canônicos. As elipses indicam intervalo de confiança de 95%.



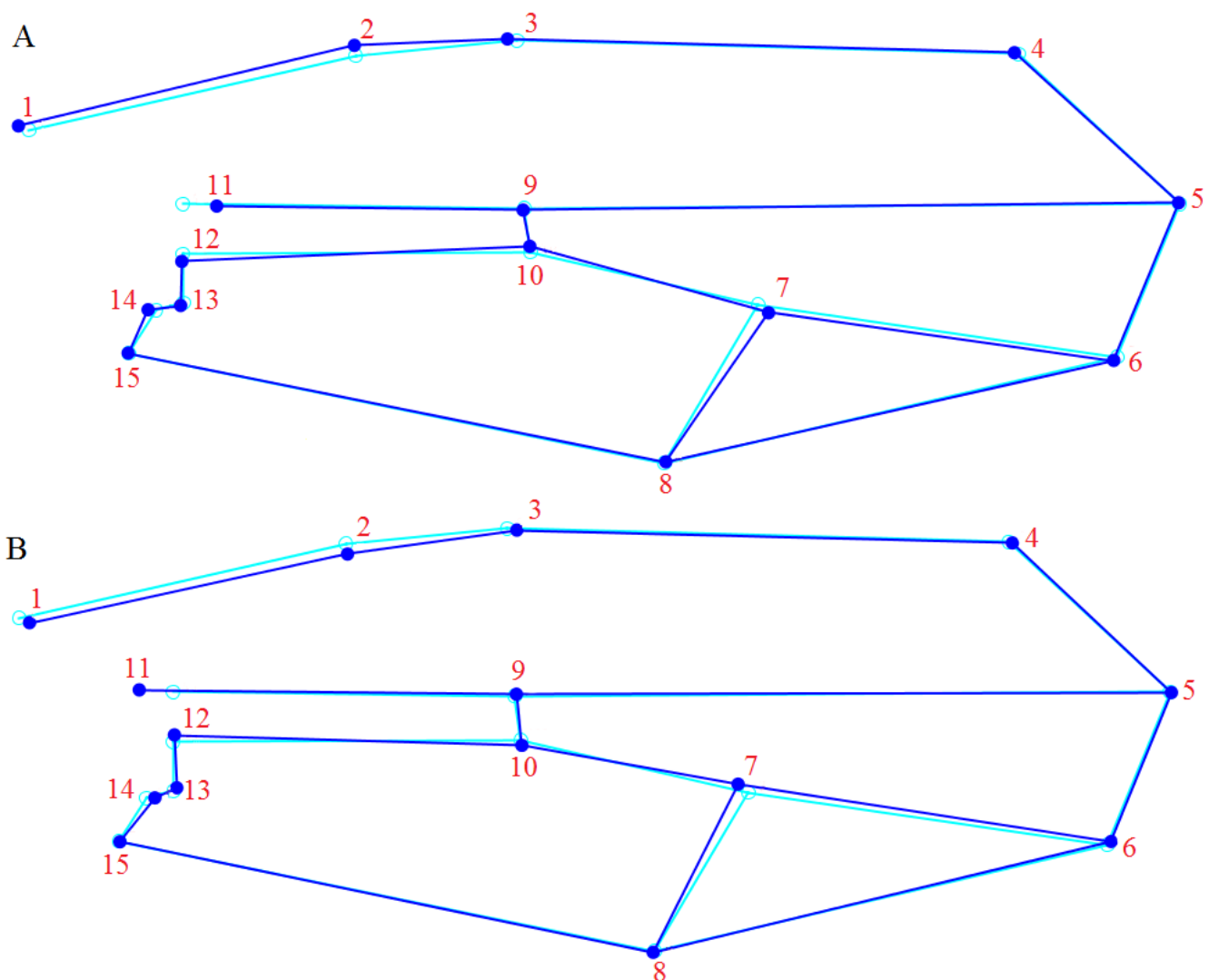
**Figura V.** Reconstrução gráfica da forma da asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no primeiro eixo canônico (CV1)(aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro as variações (mudanças) na asa no primeiro eixo canônico.

No segundo eixo canônico (CV2) (Figura VI), as variações alares não foram tão expressivas quanto ao primeiro eixo, com as diferenças associadas basicamente aos marcos anatômicos da região basal (1,2,3,11,12,13,14 e 15) e na veia transversal bm-cu (marcos 7 e 8).

As populações com escores positivo no eixo (Colombo e Fênix) tiveram uma leve expansão na região alar anterior, com os marcos 1 e 2 situados acima da configuração consenso, a veia bm-cu com sua extremidade anterior deslocada no sentido apical da asa e a r-m apresentou um leve deslocamento anterior. O marco anatômico 11 deslocou-se para o sentido apical, sendo que esse deslocamento associado

com o deslocamento posterior dos pontos mais basais foram responsáveis pela maior parte da deformação da forma encontrada na asa, os marcos 12 e 13 ficaram abaixo da configuração consenso e o 14 deslocou-se para a base da asa.

Já os grupos que apresentaram a CV2 negativa (Mbaracayú e Ponta Grossa) mostraram um leve afilamento da asa, com os marcos 1 e 2 da região anterior abaixo da média, bm-cu (marcos 7 e 8) com sua extremidade anterior basalmente orientadas, a veia r-m (marcos 9 e 10) com um leve deslocamento apical. O marco anatômico 11 fortemente deslocado para a base, gerando a maior deformação alar, os *landmarks* 12,13 e 14 situaram-se levemente acima da configuração consenso.



**Figura VI.** Reconstrução gráfica da forma das asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no segundo eixo canônico (CV2) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da as variações (mudanças) na asa no segundo eixo canônico.

A população de Jundiaí do Sul ficou centralizada no gráfico da CVA, indicando que possui indivíduos com os dois padrões de asa descritos acima, que ocupam tanto os quadrantes negativo quanto positivo. Mas ao analisar o gráfico da média da CVA (não mostrado) a população apresenta-se levemente negativa no primeiro eixo canônico (CV1), tendo o padrão da asa alargado semelhante a Fênix e Mbaracayú, e na análise par-a-par (ver Anexo) essa informação é corroborada.

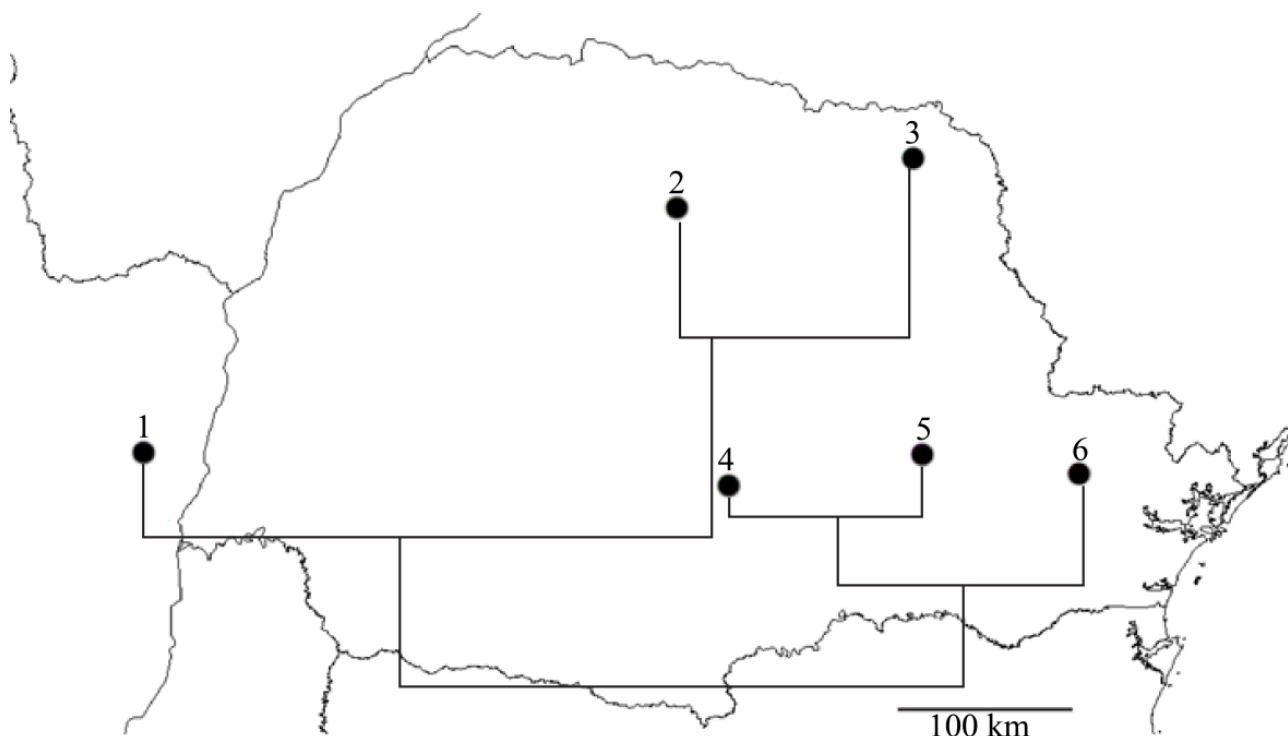
Os testes de validação cruzada indicam que o valor correto de alocação de indivíduos em seus respectivos grupos é em média de 97%, variando entre 95 e 99% (Tabela III). Ou seja, todas as populações possuem taxas extremamente altas de classificação correta apenas com a análise morfométrica, indicando que a variação é uma característica intrínseca de cada população.

**Tabela III.** Valores de classificação correta das populações de *P. orbitalis* estudadas. Notar o menor valor de alocação de 95% e o maior de 99%.

<b>População</b>	<b>Valor de Alocação (%)</b>
Colombo	97,10
Fênix	95,51
Guarapuava	99,42
Jundiaí do Sul	98,13
Mbaracayú	97,12
Ponta Grossa	96,04

O agrupamento das populações com base na distância de Procrustes indicou a formação de dois grupos distintos (Figura VII). No primeiro agrupamento há uma lógica geográfica onde as populações situadas mais próximas e com altitudes maiores (Fênix e Jundiaí do Sul) ficaram unidas, e a mais distante e com menor altitude (Mbaracayú) ficou situada externamente no grupo. No segundo agrupamento as populações que ficaram mais próximas (Guarapuava e Ponta Grossa) encontram-se mais distanciadas geograficamente, e com altitudes muito diferenciadas do que a população externa (Colombo) que geograficamente é mais próxima a Ponta Grossa e apresentam quase mesma altitude.





**Figura VII.** Dendrograma de similaridade fenotípica gerado pela distância de Procrustes, notar os dois maiores agrupamentos formados. 1. Mbaracayú; 2. Fênix; 3. Jundiá do Sul; 4. Guarapuava; 5. Ponta Grossa; 6. Colombo.

Foi realizada uma regressão entre as distâncias de procrustes e o tamanho do centroide com o intuito de analisar se todas essas variações da forma estão correlacionadas com o tamanho. Esta não apresentou-se significativa ( $p=0,187$ ;  $r^2=0,073$ ), indicando que a diferença na forma das populações não está relacionada com o tamanho dos espécimes, indicando que as diferenças visualizadas no CVA não são derivadas de alometria, abrindo a possibilidade de outras variáveis estarem associadas a forma.

Analisando o resultado da PLS (Tabela IV) verifica-se que todas as dimensões são significativas, no entanto ao analisar o valor singular e a covariação é possível observar que a PLS1 possui um valor maior do que as demais e também uma covariação maior (91%). Portanto, o resultado desta análise é unidimensional sendo que a PLS1 está mais relacionada com a forma do que as demais. E, observando as variáveis que mais contribuem para a diferenciação da forma, verifica-se que a “Altitude” e a “Precipitação do mês mais seco” possuem os maiores valores negativos, -0,79 e -0,20

respectivamente, portanto essas variáveis estão associadas as populações que apresentam-se negativas no gráfico da PLS (Figura VIII).

As variáveis “Temperatura mínima do mês mais frio” e “Temperatura média da estação mais seca” possuem os maiores valores positivo de 0,23 e 0,25 respectivamente, indicando que essas variáveis estão associadas as populações que encontram-se positivas no gráfico da PLS. Também é possível observar que as variáveis “latitude” e “longitude” possuem valores muito baixos na análise, portanto as variações na forma não estão associados com a posição geográfica das populações

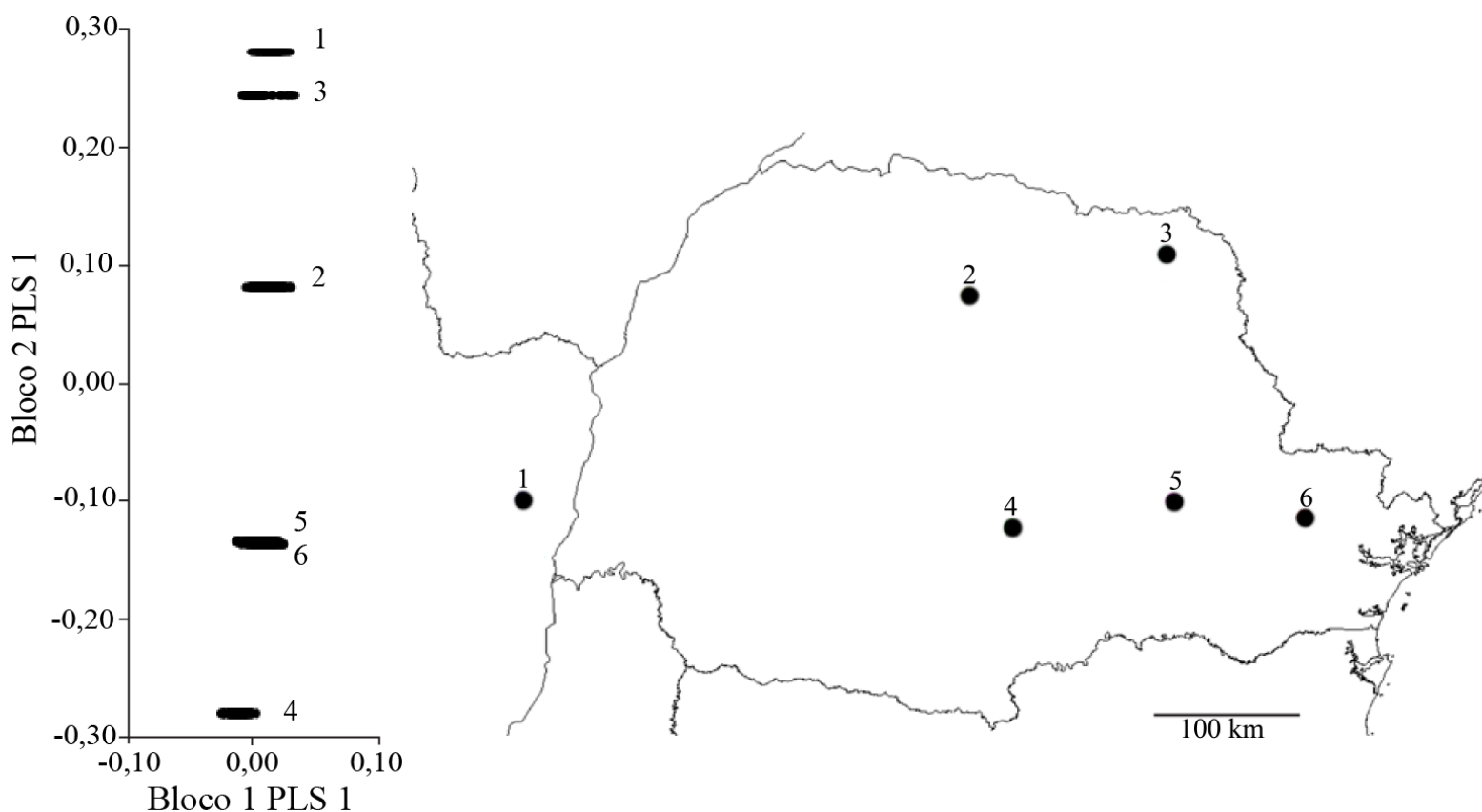
**Tabela IV.** Resultado da PLS entre a forma e variáveis ambientais. Nota-se a PLS1 com maior valor que as demais e também com maior covariação.

Variável	Dimensões				
	1	2	3	4	5
Latitude	0,033	-0,083	0,057	-0,067	0,227
Longitude	-0,051	-0,059	-0,054	0,159	-0,091
Altitude	-0,790	0,254	0,090	0,145	0,089
Temperatura média anual	0,178	0,007	0,064	0,123	0,091
Intervalo médio diurno	0,117	-0,005	0,409	-0,221	0,111
Isotermalidade	0,011	-0,104	0,279	-0,264	0,233
Sazonalidade de temperatura	0,121	0,304	-0,197	0,129	-0,282
Temperatura máxima do mês mais quente	0,149	0,057	0,090	0,142	-0,038
Temperatura mínima do mês mais frio	0,235	-0,056	-0,038	0,392	0,167
Intervalo de temperatura anual	0,111	0,106	0,146	0,032	-0,128
Temperatura média da estação mais úmida	0,116	-0,007	0,060	0,158	0,029
Temperatura média da estação mais seca	0,253	-0,094	0,145	0,063	0,407
Temperatura média da estação mais quente	0,163	0,064	0,040	0,134	-0,031
Temperatura média da estação mais fria	0,184	-0,036	0,145	0,144	0,101
Precipitação anual	-0,007	0,156	-0,206	-0,154	0,384
Precipitação do mês mais úmido	0,057	0,097	-0,454	-0,244	-0,055
Precipitação do mês mais seco	-0,201	0,420	-0,060	0,542	0,319
Sazonalidade de precipitação	0,141	-0,521	-0,298	0,165	0,214
Precipitação da estação mais úmida	0,034	-0,011	-0,332	-0,096	-0,097
Precipitação da estação mais seca	-0,122	0,442	-0,000	-0,028	0,221

Precipitação da estação mais quente	0,007	-0,105	-0,404	-0,130	0,364
Precipitação da estação mais fria	-0,045	0,314	0,032	-0,349	0,249
Valores singulares	0,00138	0,00040	0,00011	0,00007	0,00001
Valor de p	<.0001	<.0001	0.0001	<.0001	0.0102
Covariação (%)	91,461	7,670	0,594	0,256	0,019
Correlações	0,678	0,401	0,315	0,362	0,213

Coefficiente de associação entre os blocos: 0,2179

Analisando o gráfico associado com os dados da tabela observa-se que Fênix, Mbaracayú e Jundiaí do Sul apresentam-se positivas no gráfico portanto associadas com as variáveis positivas, e Colombo Guarapuava e Ponta Grossa estão negativas e consequentemente associadas com as variáveis negativas. Portanto as populações graficamente positivas possuem o fenótipo alar associado as variáveis de Temperatura, quanto as demais a forma esta relacionada com a Altitude e Precipitação.

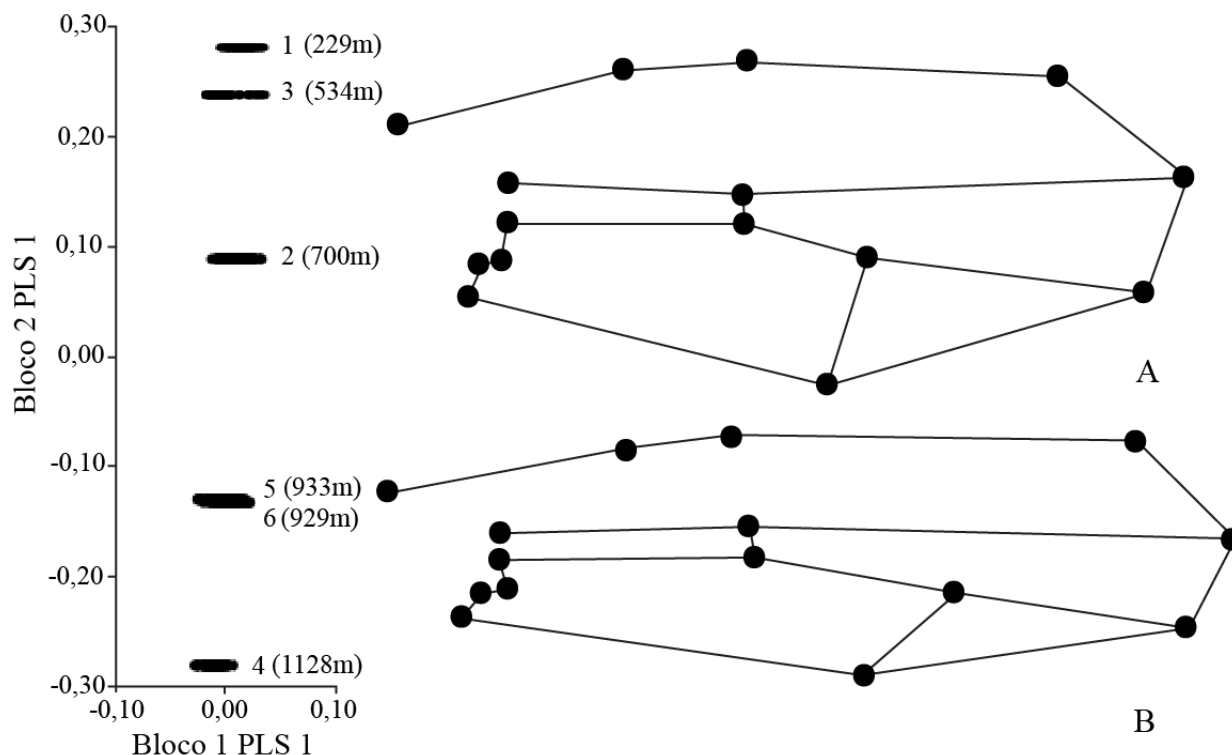


**Figura VIII.** Gráfico da PLS. Analisar os agrupamentos formados, com Colombo, Guarapuava e Ponta Grossa respondendo negativamente e Fênix, Jundiaí do Sul e Mbaracayú respondendo positivamente. 1. Mbaracayú; 2. Fênix; 3. Jundiaí do Sul; 4. Guarapuava; 5. Ponta Grossa; 6. Colombo.

Ao analisar todos os dados em conjunto é possível observar que as populações foram agrupadas em dois conjuntos pela distância de procrustes: um com a CV1 positiva e consequentemente com a asa mais afilada, e outra com a CV2 negativa com o fenótipo alar mais alargado. E na PLS ocorreu o mesmo agrupamento com as populações com a CV1 positiva associadas negativamente com a PLS, e relacionadas principalmente com a altitude e precipitação, e a CV2 negativa associadas positivamente a PLS, e relacionadas principalmente a temperatura.

Na PLS a altitude apresentou o maior valor entre as variáveis, e ao observar a diferença na altitude populacional verifica-se que Colombo, Guarapuava e Ponta Grossa (CV1 positiva) possuem altitudes de 929m, 1128m e 933m respectivamente, e Fênix, Jundiá do Sul e Mbaracayú (CV1 negativa) possuem altitudes de 700m, 534m e 229m respectivamente.

Portanto, avaliando conjuntamente a PLS com a CVA (Figura IX), fica evidente neste estudo os efeitos das variáveis ambientais na forma da asa, principalmente da altitude, onde altitudes maiores associadas com a precipitação refletem em asas mais afiladas, e em altitudes menores associadas a temperatura a asa apresenta-se mais alargada.



**Figura IX.** Gráfico comparativo da PLS (com altitudes) com a CVA (CV1). Asa com o fenótipo alargado associado a populações com altitude máxima de 700m (A), asa com o fenótipo afilado associado a populações com altitudes superiores a 900m (B). 1. Mbaracayú 2. Fênix; 3. Jundiá do Sul; 4. Guarapuava; 5. Ponta Grossa; 6. Colombo

Os resultados demonstraram que em relação a forma todas as populações diferiram entre si, apresentando variações mais significativas na largura da asa, e em relação ao tamanho todas as populações apresentaram valores semelhantes. Em estudos com muscídeos, já foi comprovado uma grande capacidade plástica do tamanho (Lomônaco & Germanos 2001) que pode ser influenciado por fatores ambientais como temperatura (Bryant 1977) e densidade larval (Ribeiro et al. 1995).

Experimentos com *Musca domestica* mostraram que temperaturas altas favorecem organismos maiores e temperaturas baixas organismos menores (Lomônaco & Prado 1994), diferindo deste trabalho onde não foram encontradas alterações no tamanho entre as populações. Embora as variações no tamanho possam estar associadas a alterações na forma (Dujardin 2008), neste trabalho isso não ocorreu. Essa dissociação já foi relatada por Hoffman & Shirrifs (2002) que estudaram as variações geográficas no padrão morfométrico de *Drosophila*.

Assim, a falta desta correlação abre caminho para que outros fatores estejam influenciando o formato alar, que não apenas a alometria. Também a PLS não mostrou haver correlação significativa entre a forma e a distância geográfica, há trabalhos como este, que mostram que a distância geográfica não apresenta interferência nos padrões morfométricos (Motoki 2012). Porém trabalhos com outros grupos de insetos já demonstraram influência da distância geográfica, sendo considerado um fator importante na estruturação populacional (Monroy 2003; Pires 2008).

Entre as variáveis testadas verificou-se que a altitude, temperatura e precipitação possuem uma relação mais significativa com a forma, outros estudos também mostraram que as variáveis do ambiente podem influenciar variações morfométricas. Prudhomme et al. (2012) diferenciaram populações de Psychodidae do Marrocos e associaram as diferenças a prováveis fatores ambientais, e Imasheva et al. (1995) estudaram variações em populações de *Drosophila melanogaster*, e sugeriram que estas diferenças seriam devido as diferenças de temperatura. Já outros trabalhos demonstram não haver efeito da temperatura nas características morfométricas, sendo que Muñoz-Muñoz et al. (2011) em estudos com Ceratopogonidae não encontraram efeitos da temperatura na resposta fenotípica.

A distância de Procrustes agrupou as populações de maiores e menores altitudes em dois grupos distintos, e na PLS a altitude apresentou-se como a variável mais significativa na análise, indicando uma influência altitudinal no fenótipo alar. Diferindo deste trabalho alguns estudos demonstraram não haver uma clara influencia altitudinal em caracteres morfométricos. Em estudos com *Aedes vexans* Kuclu et al. (2011) analisaram morfometricamente populações em diferentes altitudes (808m, 848m, 944m e 1620m), e as populações situadas em 1620m e 848m apresentaram formas semelhante das demais contrariando uma possível lógica altitudinal. Do mesmo modo Yurtas et al. (2005) em estudos com *Anopheles sacarovi* também encontraram populações de discrepantes altitudes com similaridade morfométrica.

Em contrapartida outros trabalhos demonstram o efeito altitudinal, Belen et al. (2004) analisaram morfometricamente populações de quatro altitudes distintas (368m, 468m, 644m e 1117m) e foi constatado que a população de maior altitude formou um grupo distinto das demais. Demirci et al. (2012) em estudos com *Culex theileri* também encontraram diferenças na forma da asa em populações entre altitudes de 808 e 2130 m.

Avaliando a morfometria tradicional e geométrica de *Drosophila mediopunctata*, Bitermathé et al. (1994) detectaram uma associação da forma com a altitude, indicando uma variação clinal altitudinal para a espécie.

Neste trabalho, é possível estabelecer um padrão relacionado com a altitude para *P. orbitalis*, onde segundo a amostragem estudada, populações abaixo de 900m de altitude possuem o fenótipo alar alargado e populações acima possuem a asa afilada. Em relação ao tamanho da asa, Silva (2008) detectou variações no tamanho de duas espécies de *Anastrepha* sp., onde altitudes maiores as populações apresentaram maiores dimensões da asa, diferindo deste trabalho onde não foram encontradas diferenças significativas no tamanho das asa.

Do ponto de vista ecológico a diferença do fenótipo alar em decorrência da altitude pode ser relacionada com o desempenho do voo, e portanto pode ser um tipo de seleção contra dispersão em maiores altitudes (Demirci et al. 2012). O padrão alar afilado nas populações de maiores altitudes pode representar algum tipo de vantagem para os indivíduos, interferindo positivamente em suas características ecológicas já que em maiores altitudes a redução da densidade do ar pode interferir nas forças aerodinâmicas das asas dos insetos (Dudley 2000), provocando as alterações observadas. E em relação as populações de menores altitudes que apresentam a asa alargada esse fenótipo pode determinar um maior custo energético para o voo (Ayala 2011), porém o organismo pode diminuir a velocidade da asa para manter o voo de sustentação, portanto a asa alargada pode acarretar em uma economia energética do indivíduo (Dillon et al. 2006).

## 5. CONCLUSÕES

Este estudo mostra que a morfometria geométrica pode ser uma ferramenta extremamente útil na detecção de variações fenotípicas muito sensíveis e de difícil detecção. Todos os objetivos do trabalho foram alcançados, onde foi possível distinguir par-a-par as populações, e também detectar quais variáveis abióticas estavam interferindo no fenótipo encontrado.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Ita J Zoo* 71: 5-16. doi:10.1080/11250000409356545

Alencar J, Guimarães AC, Mello RP, Lopes CM, Dégallier N, Santos-Mallet JR (2003) Microscopia eletrônica de varredura de ovos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *Rev Saúde Públ* 37:658-661. doi:10.1590/S0034-89102003000500017

Ayala D, Caro-Hiano H, Dujardin JP, Rahola N, Simard F, Fontenille D (2011) Chromosomal and environmental determinants of morphometric variation in natural populations of the malaria vector *Anopheles funestus* in Cameroon. *Infect Genet Evol.* doi:10.1016/j.meegid.2011.03.003.

Aytekin AM, Alten B, Caglar SC, Ozbel Y, Kaynas S, Simsek FM, Kasap OE, Belen A (2007) Phenotypic variation among local populations of phlebotomine sand flies (Diptera: Phlebotomidae) in southern Turkey. *J Vect Ecol* 32:226-234.

Belen A, Alten B, Aytekin M (2004) Altitudinal variation in morphometric and molecular characteristics of *Phlebotomus papatasi* populations. *Med Vet Entomol* 18:343-350.

Bitner-Mathé BC, Peixoto AA, Klaczko LB (1995) Morphological variation in a natural population of *Drosophila mediopunctata*: altitudinal cline, temporal changes and influence of chromosome inversions. *Heredity* 75: 54-61

Bookstein FL (1996) Biometrics, biomathematics and morphometrics synthesis. *B Math Biol* 58:313-365.

Bookstein FL (1991) Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology. Cambridge University Press, New York.

Bomfim ZV, Lima KM, Silva JG, Costa MA, Zucchi RA (2011) A Morphometric and Molecular Study of *Anastrepha pickeli* Lima (Diptera: Tephritidae) Neotrop Entomo 5: 587-594. doi: 10.1590/S1519-566X2011000500010

Bryant EH (1977) Morphometric adaptation on the house fly *Musca domestica* L., in the United States. *Evolution* 31: 580-596. doi:10.2307/2407523

Costa M (2008) Padrões de assimetria ao longo da distribuição geográfica de *Drosophila antonietae* Tindon-Sklorz & Sene. Dissertação. Universidade Federal do Paraná.

Couri MS, de Carvalho CJB (1997) Revision of *Polietina* Schnabl & Dziedzicki (Diptera, Muscidae) and considerations on its new systematic position. *Rev Bras Zool*, 14: 255–281 doi: 10.1590/S0101-81751997000200002

Demirci B, Lee Y, Lanzaro GC, Alten B (2012) Altitudinal genetic and morphometric variation among populations of *Culex theileri* Theobald (Diptera: Culicidae) from northeastern Turkey. *J Vect Ecol* 37:197-209. doi:10.1111/j.1948-7134.2012.00217.x.



- Devicari M, Lopes AR, Suesdek L (2011) Dimorfismo sexual de *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae). *Biota Neotrop.* 11: 165-169. doi:10.1590/S1676-06032011000200016
- Dillon ME, Frazier MR, Dudley R (2006) Into thin air: Physiology and evolution of alpine insects. *Integr Comp Biol.* 46:49–61. doi: 10.1093/icb/icj007
- Dudley, R (2000) The biomechanics of insect flight: Form, function, and evolution. Princeton University Press, Princeton
- Dujardin JP (2008) Morphometrics applied to medical entomology. *Infect Genet Evol.* 8:875-890 doi: 10.1016/j.meegid.2008.07.011
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol Electron* 4: 1-9.
- Hoffman AA, Shirriffs J (2002) Geographic variation for wing shape in *Drosophila serrata*. *Evolution* 5: 1068-1073. doi: 10.1111/j.0014-3820.2002.tb01418.x
- Imasheva AG, Bubli OA, Lazebny OE, Zhivotovsky LA (1995) Geographic differentiation in wing shape in *Drosophilamelanogaster*. *Genetica* 96: 303-306. doi: 10.1007/BF01439584
- James FC, McCulloch CE (1990) Multivariate analysis in ecology and systematics: Panaceae or Pandora's box? *Annu Rev Ecol Syst* 21:129-166. doi: 10.1146/annurev.es.21.110190.001021
- Klingenberg CP (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Computer program. *Molecular Ecology Resources*. [http://www.flywings.org.uk/MorphoJ\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm)
- Kuclu O, Aldemir A, Demirci B (2011) Altitudinal Variation in the Morphometric Characteristics of *Aedes vexans* Meigen from Northeastern Turkey. *J Vect Ecol* 36: 30-41. doi: 10.1111/j.1948-7134.2011.00138.x.
- Lomônaco C, Germanos E (2001) Variações Fenotípicas em *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) em Resposta a Competição Larval por Alimento. *Neotrop Entomol* 30:223-231 doi:10.1590/S1519-566X2001000200004.
- Lomônaco C, Prado AP (1994) Morfometria de *Musca domestica* L. de granjas de galinhas poedeiras. *An Soc Entomol Brasil* 23: 171-178.
- Lorenz C, Marques TC, Sallum MAM, Suesdek L (2012) Morphometrical diagnosis of the malaria vectors *Anopheles cruzii*, *An. homunculus* and *An. bellator*. *Parasit Vectors* 5: 257- 264. doi: 10.1186/1756-3305-5-257
- Marsteller S, Adams DC, Collyer ML, Cordon M (2009) Six cryptic species on a single species of host plant: morphometric evidence for possible reproductive character displacement. *Ecol Entomol* 34: 66-73. doi: 10.1111/j.1365-2311.2008.01047.x
- Monroy C, Bustamante DM, Rodas A, Rosales R, Mejía M, Tabaru Y (2003) Geographic Distribution and Morphometric Differentiation of *Triatoma nítida* Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Guatemala. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98:37-43. doi: 10.1590/S0074-02762003000100006

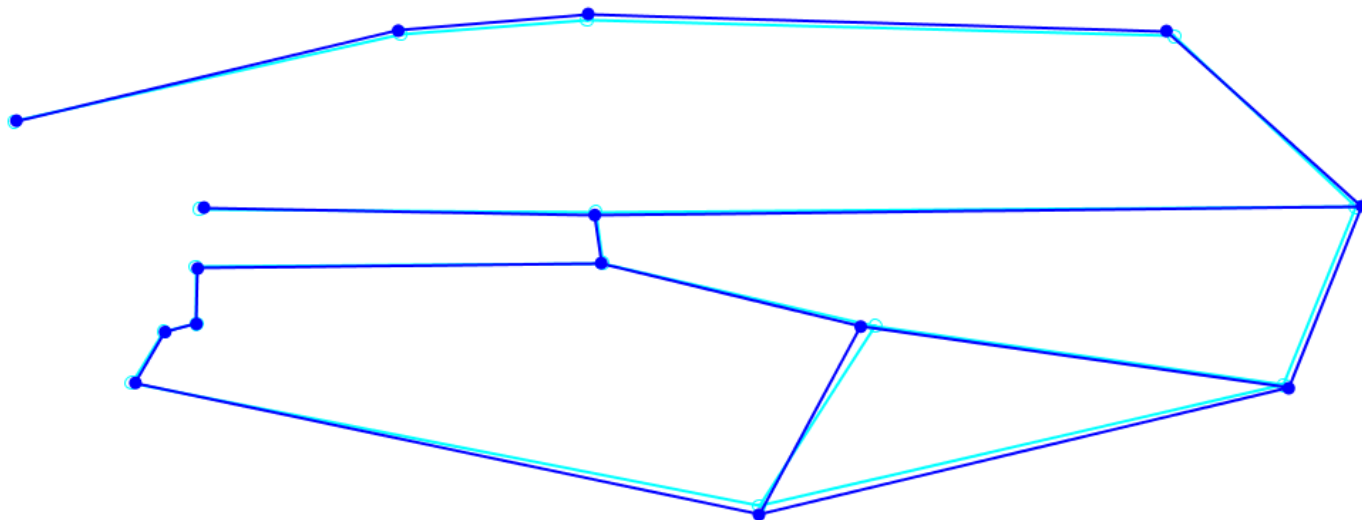
- Monteiro LR, Reis SF (1999) Princípios de morfometria geométrica. Holos editora, Ribeirão Preto.
- Moraes DA(2003) A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. Bioletim3: 1-5.
- Morais, S.A. 2009. Relações morfométricas e genética populacional de *Culex quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae). Tese. Universidade de São Paulo.
- Motoki MT, Suesdek L, Bergo ES, Sallum MAM (2012) Wing geometry of *Anopheles darlingi* Root (Diptera:Culicidae) in five major Brazilian ecoregions. Infect Genet Evol 12: 1246-1252. doi:10.1016/j.meegid.2012.04.002
- Muñoz-Muñoz F, Talavera S, Pages N (2011) Geometric morphometrics of the wing in the subgenus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae): From practical implications to Evolutionary interpretations. J Med Entomol 48: 129-139. doi: 10.1603/ME10110
- Nihei SS, de Carvalho CJB (2004) Description of the male of *Polietina prima* (Couri & Machado) and new synonymies in the genus *Polietina* Schnabl & Dziedzicki (Diptera, Muscidae). Studia Dipterologica 10: 665–672.
- Nihei SS, de Carvalho CJB(2007)Systematics and biogeography of *Polietina* Schnabl & Dziedzicki (Diptera Muscidae): Neotropical area relationships and Amazonia as a composite area. Syst Entomol 32 477-501. doi: 10.1111/j.1365-3113.2006.00376.x
- Peres-Neto PR (1995) Introdução a análises morfométricas. Oecol bras 2: 57-89.
- Pires EM, Guedes NRC, Serrão JE, Ferreira PSF (2008) Seasonal and interpopulation morphometry variation of *Platyscytus decempunctatus* (Carvalho, 1945) (Heteroptera:Miridae). Biot Neotrop 8: 39-46.
- Prudhomme J, Gunay F, Rahola N, Ouanaimi F, Guerneauoui S, Boumezzough A, Bañuls AL, Sereno D, Alten B (2012) Wing size and shape variation of *Phlebotomus papatasi* (Diptera:Psychodidae) populations from the South and north slopes of the Atlas Mountains in Morocco. J Vector Ecol 37: 137-147. doi: 10.1111/j.1948-7134.2012.00210.x.
- Rafael JA (1986) Sistemática Filogenética dos Gêneros de Pipunculidae do Novo Mundo. Tese. Universidade Federal do Paraná.
- Ribeiro SC, AM Sousa, Lomônaco C (1995) Influência de fatores ambientais na determinação do tamanho de *Musca domestica* L. (Diptera:Muscidae). Rev Bras Biol 55:633-637.
- Rohlf FJ (1998) On Applications of Geometric Morphometrics to Studies of Ontogeny and Phylogeny. Syst Biol 1: 147-158
- Rohlf FJ, Slice DE (1990) Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Syst Zool 39:40-59. doi: 10.2307/2992207
- Rohlf FJ, Corti M (2000) Use of Two-Block Partial Least-Squares to Study Covariation in Shape. Syst Biol 49: 740-753. doi: 10.1080/106351500750049806

- Scheiner SM (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu Rev Ecol Syst* 24: 35-68. doi: 10.1146/annurev.es.24.110193.000343
- Silva TGA (2008) Caracterização morfométrica e molecular de *Anastrepha bistrigata* Bezzi e *Anastrepha striata* Schiner (Diptera: Tephritidae). Dissertação. Universidade de São Paulo.
- Silveira BE (2011) Morfometria geométrica comparativa de asas de Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense: uma ferramenta eficaz para a identificação? Dissertação. Universidade Federal do Paraná.
- Slice DE (2007) Geometric Morphometrics. *Annu Rev Anthropol* 36: 261-81. doi: 10.1146/annurev.anthro.34.081804.120613
- Stephens CR, Juliano SA (2012) Wing shape as an indicator of Larval Rearing Conditions for *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 49: 927-938. doi: 10.1603/ME12012
- Strauss RE, Bookstein FL (1982) The truss: body form reconstruction in morphometrics. *Syst Zool* 31: 113-135. doi: 10.1093/sysbio/31.2.113
- Sultan SE (1995) Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Bot Neerl* 44: 363-383.
- Thompson, F.C. 2008. The Diptera site. The biosystematic database of world Diptera. Nomenclator status statistics. Version 10.5. <<http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/names/Status/bdwdstat.htm>>.
- Uribe MN, Wolff M, de Carvalho CJB (2010) Synanthropy and ecological aspects of Muscidae (Diptera) in a tropical dry forest exosystem in Colombia. *Rev Bras Entomol* 54:462-470. doi : 10.1590/S0085-56262010000300018
- Wells CL, Pigliucci M (2000) Adaptive phenotypic plasticity: the case of heterophylly in aquatic plants. *Perspect Plant Ecol* 3: 1-18. doi: 10.1078/1433-8319-00001
- Worthington AM, Berns MC, Swallow JG (2012) Size matters, but so does shape: quantifying complex shape changes in a sexually selected trait in stalk-eyed flies (Diptera: Diopsidae). *Biol J Linn Soc* 106: 104-113. doi: 10.1111/j.1095-8312.2011.01841.x
- Yurttas H, Alten B, Aytekin AM (2005) Variability in natural populations of *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae) from southeast Anatolia, revealed by morphometric and allozymic analyses. *J Vector Ecol* 30: 206-212.
- Zequi JAC, Lopes J (2007) Morphometry of eggs and Immatures of *Culex* (*Culex*) *saltanensis* Dyar (Diptera, Culicidae) obtained in the laboratory and on the field. *Rev Bras Zool* 24: 169-174. doi: 10.1590/S0101-81752007000100021

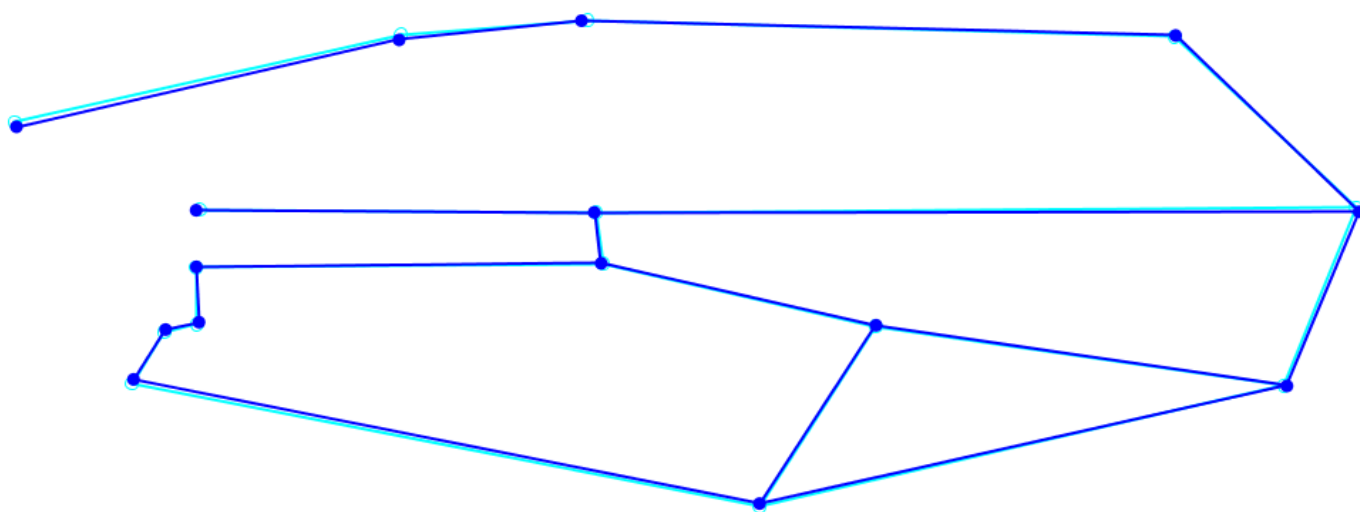
**ANEXO I**

Alterações par-a-par, primeira população: azul claro, segunda: azul escuro.

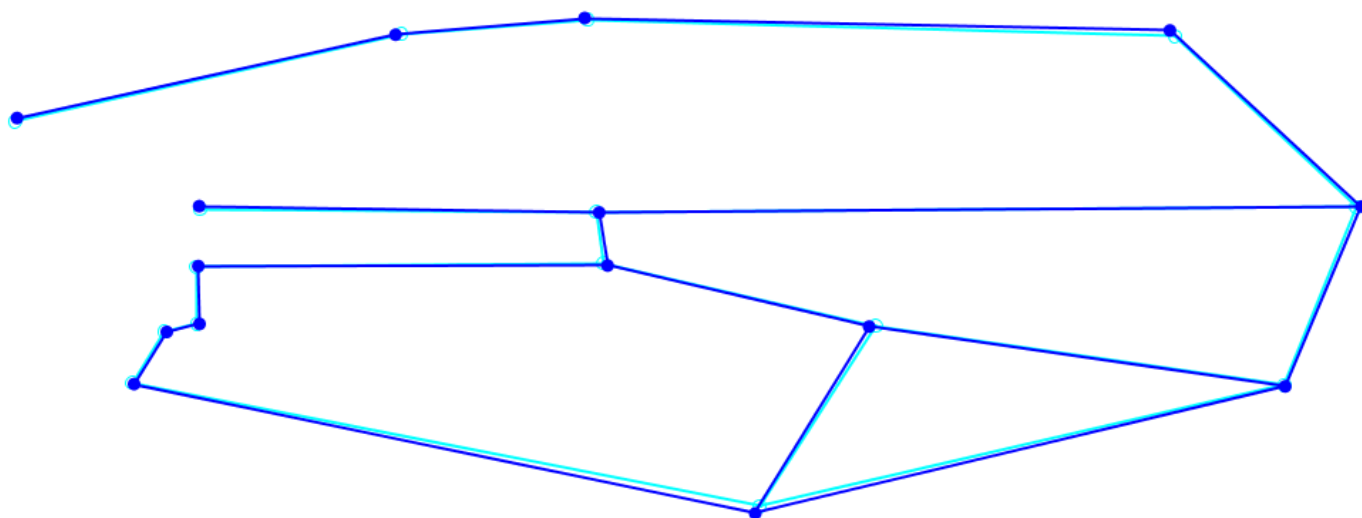
COLOMBO x FÊNIX



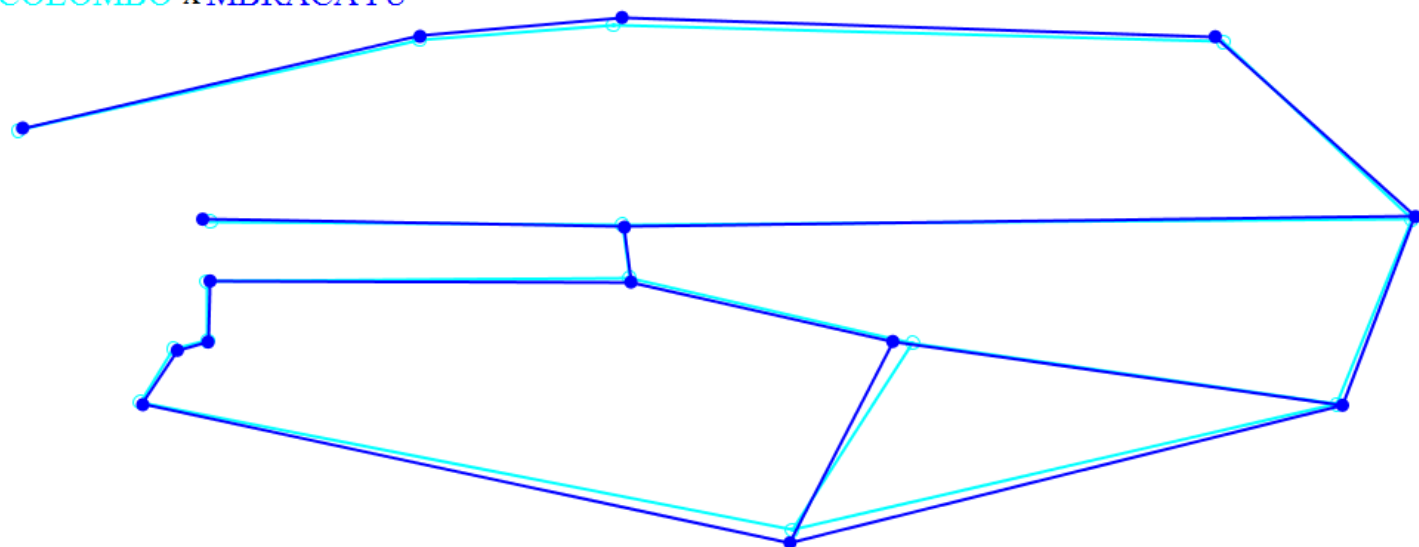
COLOMBO x GUARAPUAVA



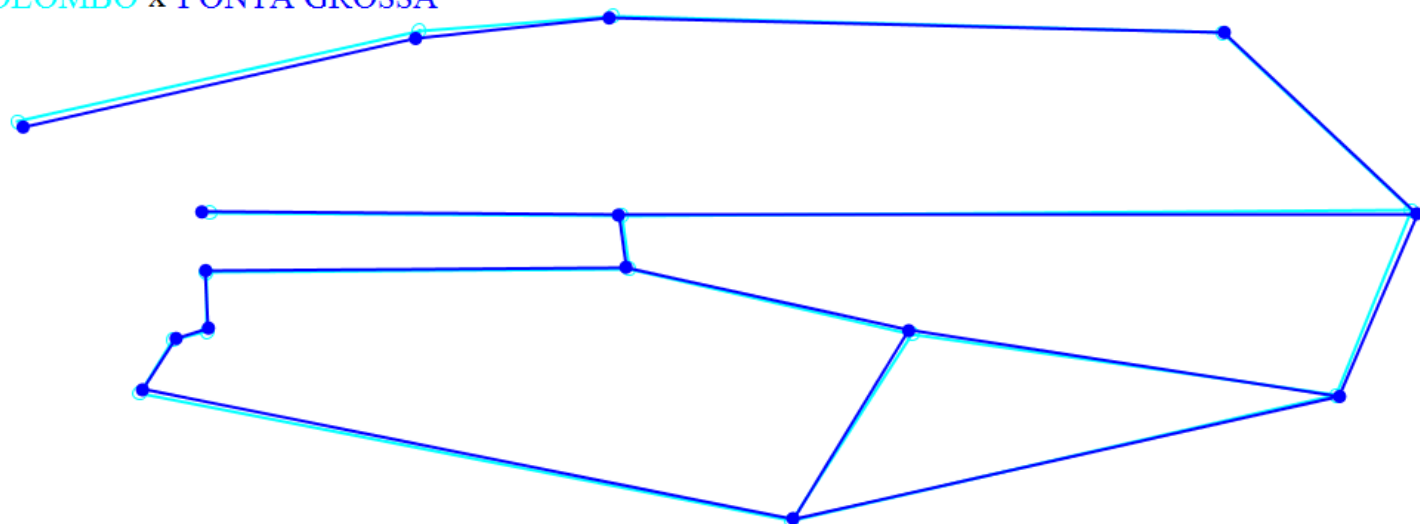
COLOMBO x JUNDIAÍ DO SUL



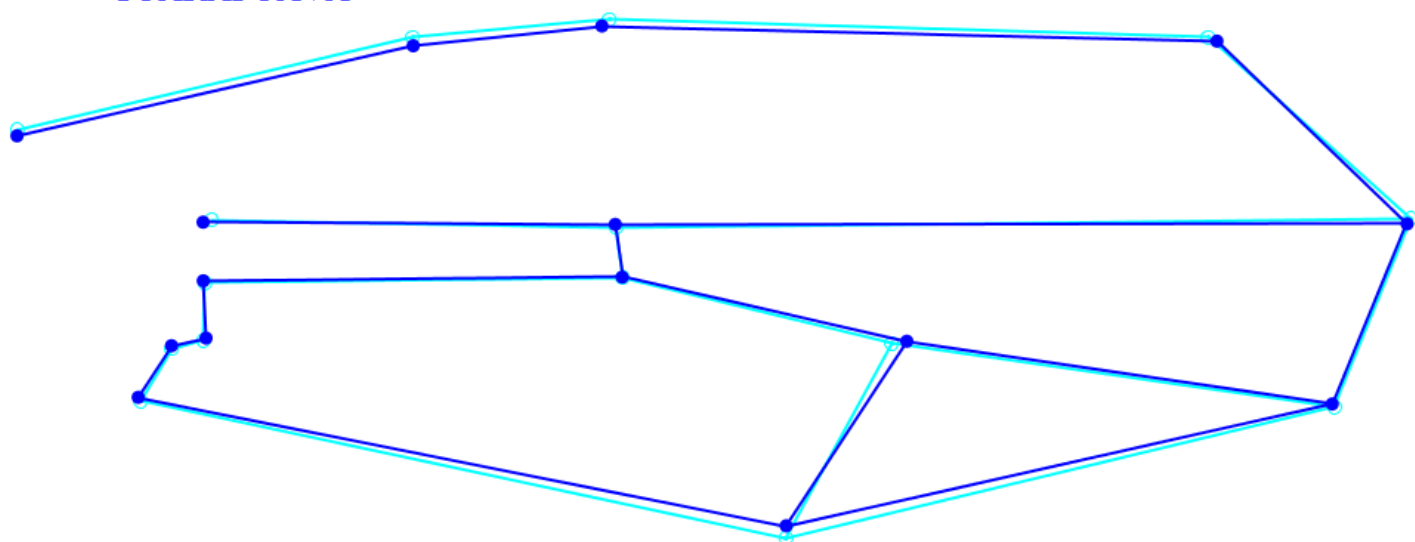
COLOMBO x MBRACAYÚ



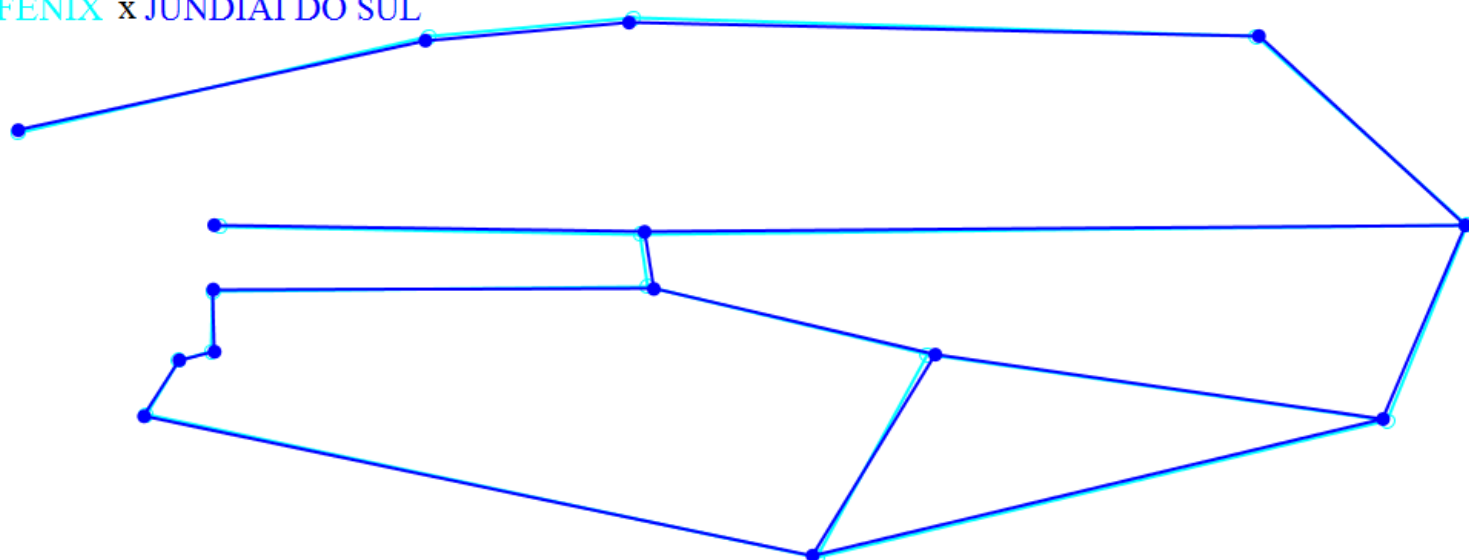
COLOMBO x PONTA GROSSA



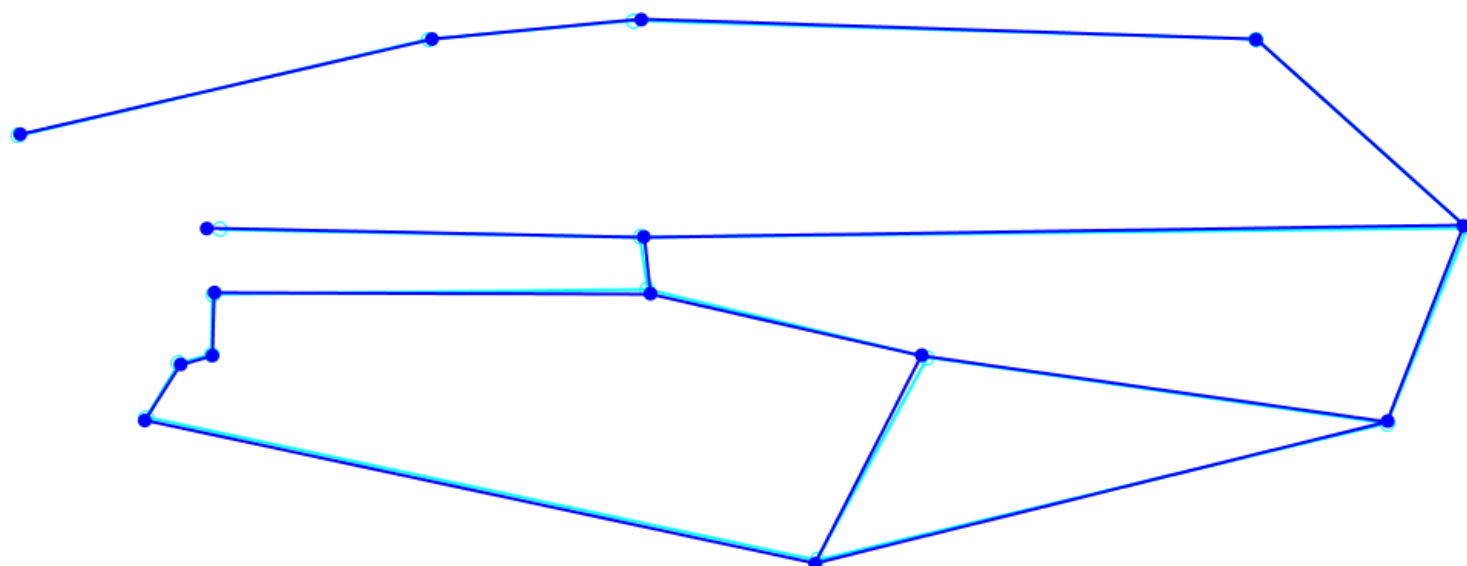
FÊNIX x GUARAPUAVA



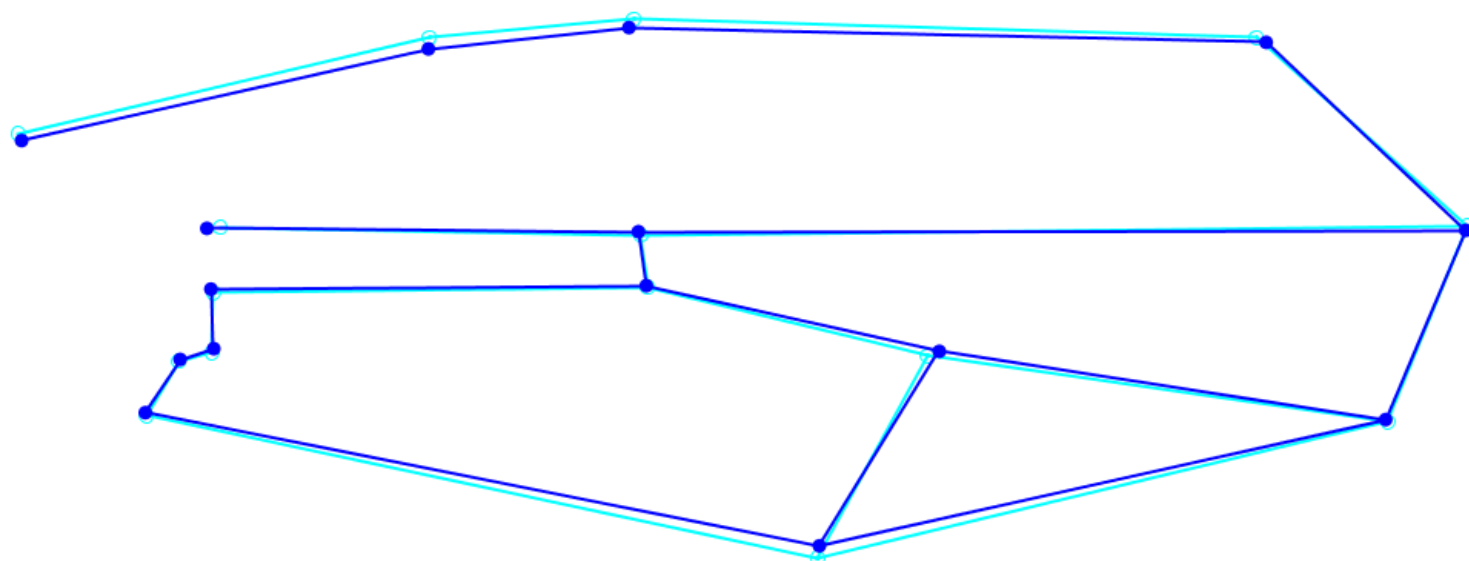
FÊNIX x JUNDIAÍ DO SUL



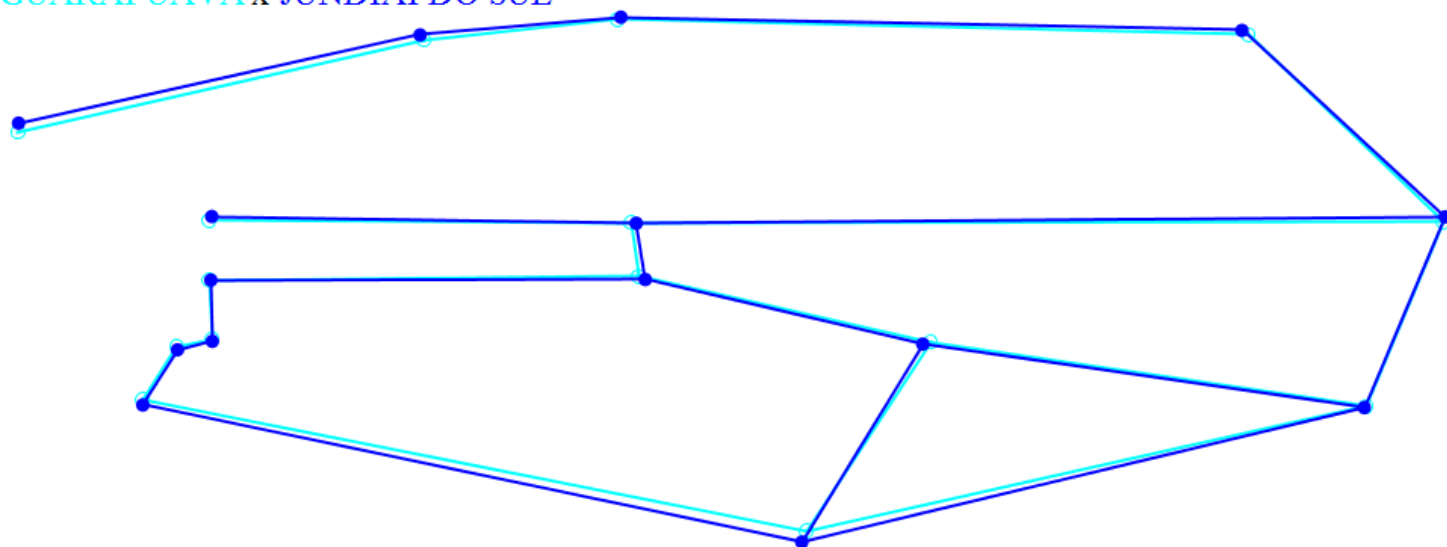
FÊNIX x MBRACAYÚ



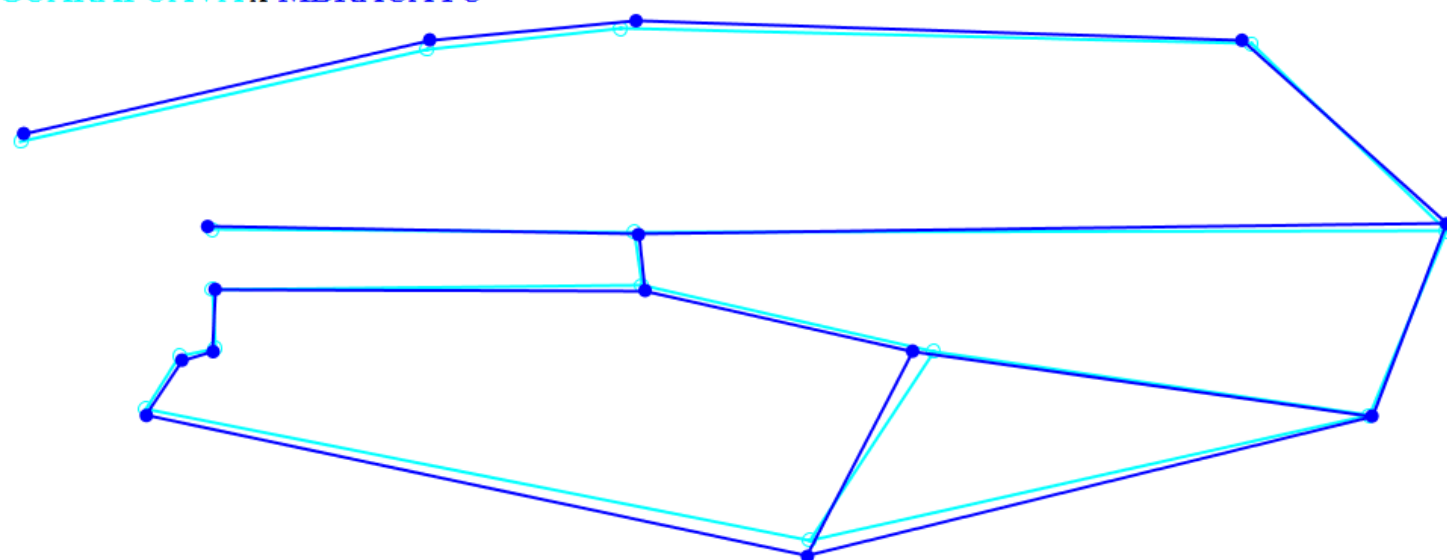
FÊNIX x PONTA GROSSA



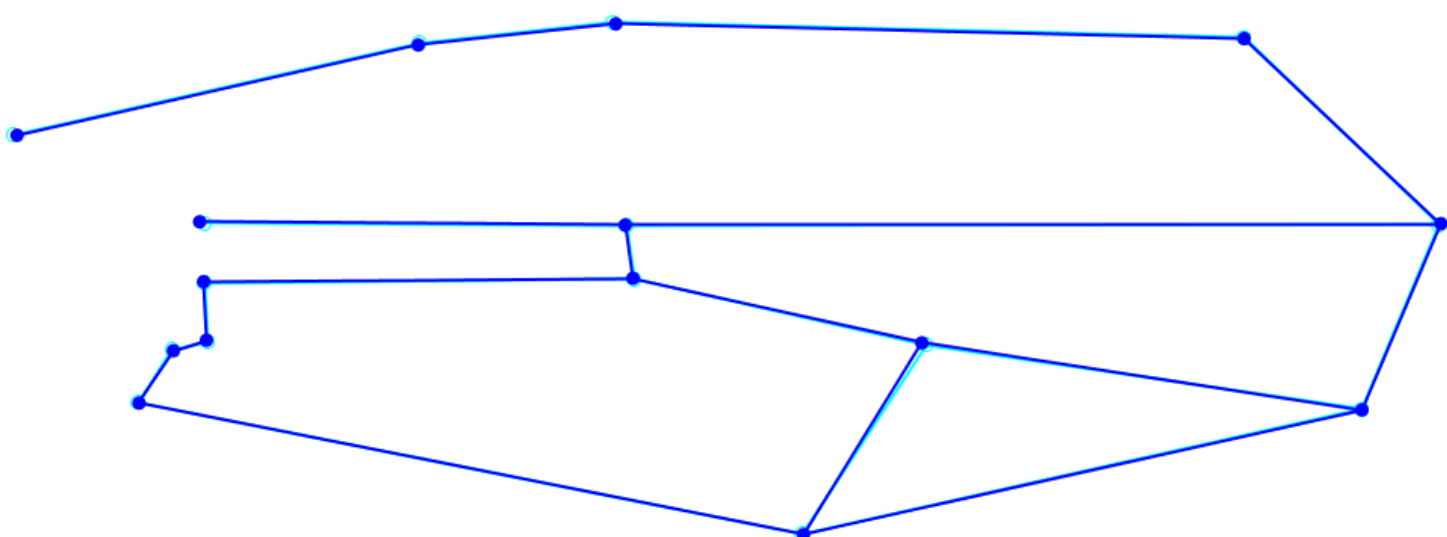
GUARAPUAVA x JUNDIAÍ DO SUL



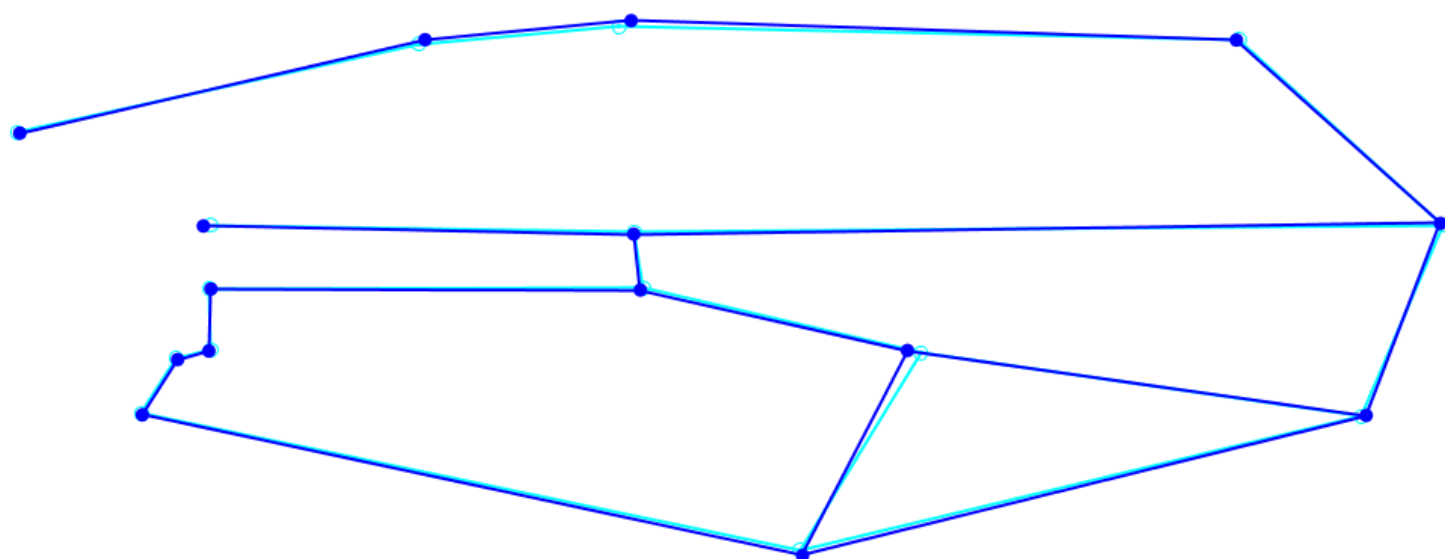
GUARAPUAVA x MBRACAYÚ



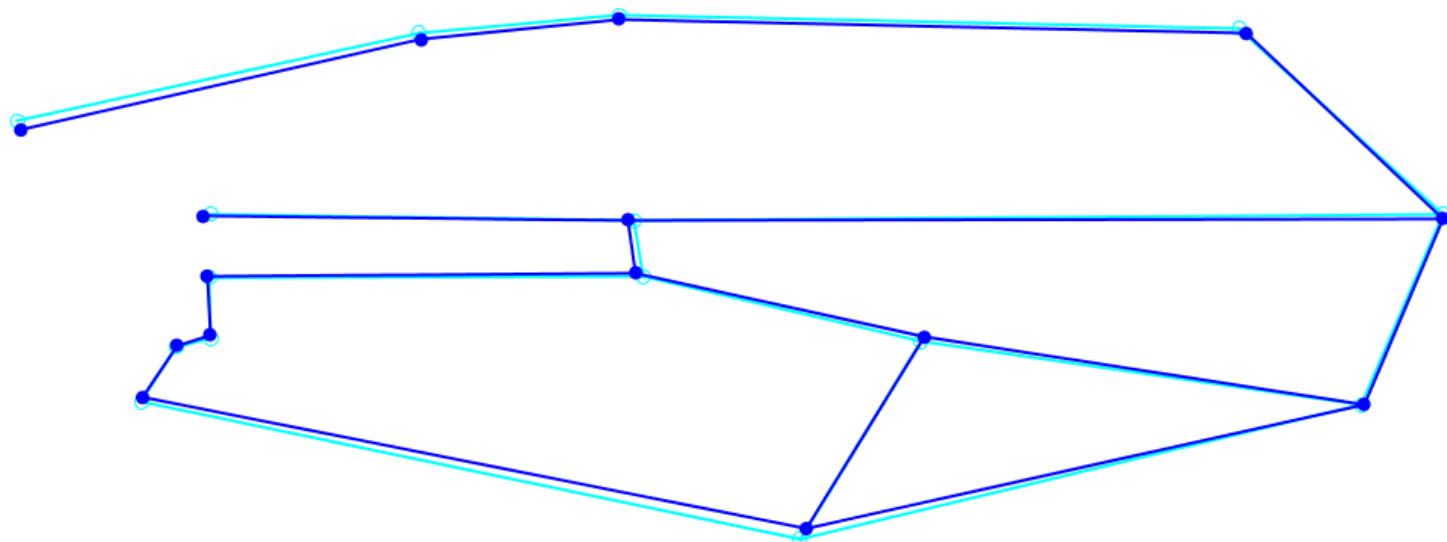
GUARAPUAVA x PONTA GROSSA



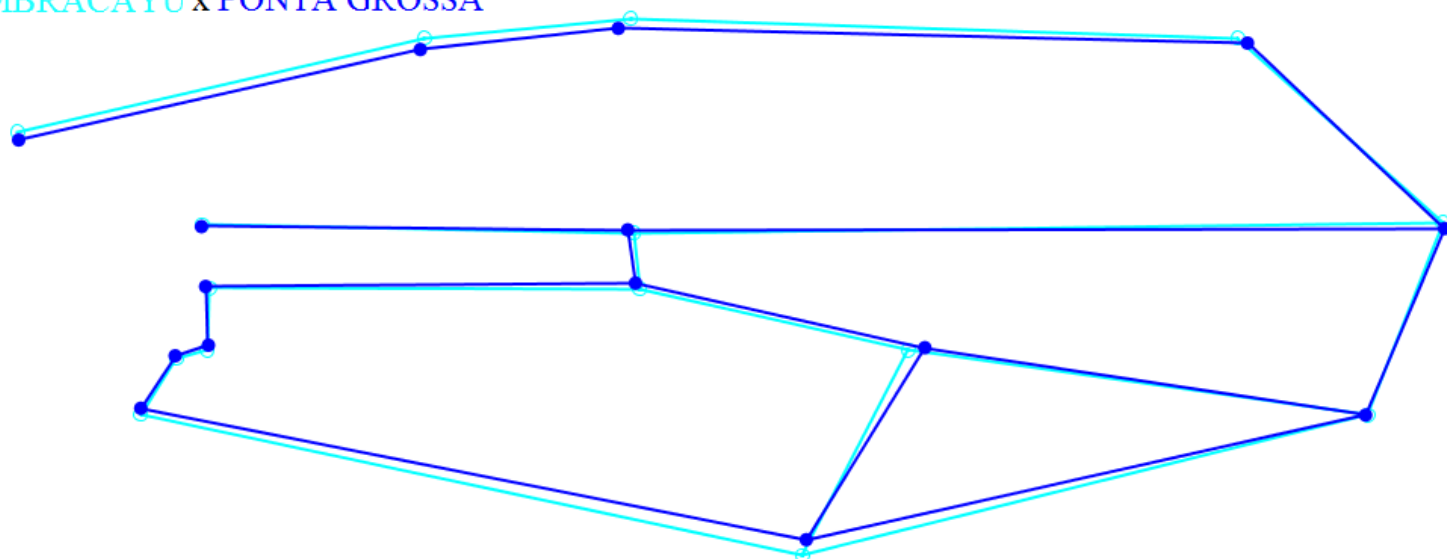
JUNDIAÍ DO SUL x MBRACAYÚ



JUNDIAÍ DO SUL x PONTA GROSSA



MBRACAYÚ x PONTA GROSSA





## **CAPÍTULO II**

VARIAÇÕES NO FENÓTIPO ALAR ASSOCIADOS À DISTÂNCIA  
GEOGRÁFICA DE *BIOPYRELLIA BIPUNCTA* (WIEDEMANN)  
(DIPTERA:MUSCIDAE).

## RESUMO

### **Variações no fenótipo alar associados à distância geográfica de *Biopyrellia bipuncta* (Wiedemann) (Diptera:Muscidae).**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a variação morfométrica alar de *Biopyrellia bipuncta*(Wiedemann)de acordo com a sua área distribucional. Foram utilizados 103 espécimes provenientes de seis regiões: Campinas -SP (n=30), Jundiaí do Sul - PR (n=11), Linhares - ES (n=30), Ilha de Maracá - RR (n=13), Repartimento - PA (n=5) e Vilhena - RO (n=14). Para a análise da forma foram distribuídos 15 *landmarks* na asa esquerda dos exemplares fêmeas e utilizadas diferentes técnicas multivariadas (GPA, MANOVA, Análise discriminante, Análise de variáveis canônicas) e para o tamanho foi utilizado o valor do centroide. Para avaliar se há interferência ambiental, altitudinal e/ou geográfica na forma da asa foram testadas 19 variáveis ambientais, latitude e longitude, utilizando a técnica PLS. Em relação ao tamanho da asa as populações estudadas não apresentaram diferenças significativas entre si. Em relação a forma foi verificado que exceto a população de Repartimento (PA), todas as outras diferiram entre si, não sendo observado uma correlação entre o tamanho e a forma da asa. Entre as variáveis testadas a temperatura, precipitação e latitude foram as mais significativas, estando mais relacionada com a forma nas populações estudadas,uma discussão a respeito destas variáveis é apresentada.

**Palavras-chave:** *Biopyrellia bipuncta*, Efeito latitudinal, Morfometria geométrica.

## ABSTRACT

### **Variation in wing phenotype associated with geographical distance among populations of *Biopyrellia bipuncta* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae).**

The objective of this study was to evaluate the morphometric variation of alar *Biopyrellia bipuncta* (Wiedemann) related to its geographic distribution. Wings of 103 specimens from six locations were used: Campinas - SP (n=30), Jundiaí do Sul - PR (n=11), Linhares - ES (n=30), Ilha de Maracá - RR (n=13), Repartimento - PA (n=5) e Vilhena - RO (n=14). For morphometric analysis, 15 landmarks were chosen in the dorsal region of the right wing of female specimens, the wing morphology was determined using several multivariate techniques (GPA, MANOVA, discriminant analysis, canonical variate analysis) and for the size the value of centroid was used. To evaluate if there is environmental, altitudinal and/or geographical effect on wing shape 19 environmental variables were tested, latitude and longitude, using the PLS technique. The analyzes of the populations studied showed no significant size differences. It was found that except for the population of Repartimento (PA), all others differ in shape, no correlation between the size and shape of the wing was observed. Among the variables tested temperature, precipitation and latitude were the most significant, being more related to the shape the populations studied. A discussion of these variables is presented.

**Keywords:** *Biopyrellia bipuncta*, Geometric morphometric, Latitudinal effect.

## 1. INTRODUÇÃO

Uma das influências do meio ambiente é o seu efeito em diferentes características fenotípicas dos organismos, sendo um tema muito estudado nos trabalhos ecológicos e evolutivos atuais. Portanto, para caracterizar processos ecológicos é possível associar a forma e o tamanho de um organismo a diferentes aspectos ecológicos e comportamentais, como a alimentação, uso de micro-habitat, pressão seletiva, competição, predação entre outras, tendo em vista que a morfologia de um organismo é o resultado final de sua evolução (Peres-Neto 1999). Neste contexto de associação da morfologia com a ecologia dos organismos, Karr & James (1975) cunharam o termo “ecomorfologia”, caracterizando-se como o ramo da ecologia que procura estabelecer as relações existentes entre a morfologia, ecologia e comportamento de indivíduos, populações e guildas. Esses estudos procuram identificar as consequências evolutivas do *design* adquirido pelos organismos (Peres-Neto 1999).

Neste tipo de estudo é possível separar populações devido as diferentes pressões evolutivas sofridas pelas mesmas, sendo que a maioria dos estudos de diferenciação populacional utilizam marcadores moleculares e filogeografia (Avice 2000). E um dos métodos que está se destacando pela sua eficiência é a morfometria (Franco 2008). De acordo com Bookstein (1996) a morfometria é o estudo da variação da forma e do tamanho e a sua covariação com outras variáveis, e é subdividida em tradicional e geométrica. Na morfometria tradicional são avaliadas medidas e distâncias, gerando apenas informações sobre o tamanho dos organismos em estudo. Já, na abordagem geométrica são utilizados marcos anatômicos (*landmarks*) que são pontos no espaço inseridos em um plano cartesiano que fornecem a informação precisa sobre a forma do organismo (Adams *et al.* 2004).

A morfometria geométrica é utilizada em diversas áreas do conhecimento. Na botânica pode ser utilizada na descrição de arquiteturas foliares (Fonseca 2006) e caracterização de espécies (Premoli 1996), na zoologia pode auxiliar no entendimento de padrões evolutivos (Cardini & Higgins 2004) e distribucionais (Meliciano 2009). Na paleontologia pode ser aplicada no intuito de melhorar a identificação taxonômica através de pegadas de dinossauros (Rodrigues & Santos 2003). E em estudos de variação populacional (como do presente trabalho), normalmente tentam relacionar as variações

morfométricas intra e interpopulacionais, e relacionar diferentes variações ambientais com a variação fenotípica encontrada (Reis 1988).

Especificamente em estudos entomológicos, o estudo morfométrico aplica-se como ferramenta que auxilia os diversos ramos desta ciência (Pires 2008), como a descrição de imaturos (Silva *et al.* 2006), utilização na identificação de unidades crípticas (Marsteller 2008), na influência da sazonalidade na morfologia de uma espécie, e na distinção de caracteres morfológicos ligados ao dimorfismo sexual (Ferreira *et al.* 2006). Outra aplicação tem sido a utilização da morfometria para a identificação e/ou caracterização de espécies, inclusive foram desenvolvidos sistemas automáticos de identificação como o ABIS – *Automatic Bee Identification System* (Schroder *et al.* 1995). As estruturas mais comuns utilizadas na morfometria são basicamente a cabeça, o tórax e a genitália (Santos *et al.* 2003, Mare *et al.* 2004, Ferreira 2006), porém atualmente as asas são mais empregadas por serem planas e de fácil manuseio (Vaz *et al.* 2004).

Neste trabalho foi estudada a variação da morfometria alar de diferentes populações de *Biopyrellia bipuncta* (Wiedemann), muscídeo de ampla distribuição na região Neotropical possui registros de ocorrência na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, México, Panamá, Paraguai, Trinidad e Tobago e Venezuela, especificamente no Brasil há ocorrência em todos os estados da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste, no Norte há registro no Amazonas, Rondônia e Roraima e no Nordeste no Ceará (Löwenberg & de Carvalho 2013).

Esta espécie pertence a um gênero monotípico que até 1986 era tratado como sinônimo de *Morellia* Robineau-Desvoidy, mas que foi revalidada e redescrita por Pamplona (1986). A espécie é caracterizada pela coloração do corpo azul metálico, machos com os omatídeos ântero-inferiores muito alargados, vibrissa fraca, cerdas dorso centrais variando entre 0:1 e 0:2, acrosticais 0:0 e 0:1, intra alares 0:1, supra alares 0:2, e catepisternais 0:1 e 0:2, caliptra inferior bem desenvolvida e porção apical da veia M fortemente curva (Pamplona 1986). Em estudos com muscídeos sinantrópicos Uribe *et al.* (2010) constataram um baixo índice sinantrópico para *Biopyrellia bipuncta*, indicando que esta espécie prefere regiões não habitadas.

Também foi verificado o comportamento necrófago da espécie (Barbosa *et al.*, 2009), seu desenvolvimento em material em decomposição (Mendes *et al.* 2002), e

também sua importância na entomologia forense (Carvalho & Mello-Patiu 2008). Em trabalhos de levantamento esta espécie também destaca-se pela abundância (Uribe *et al.* 2010; Luiz *et al.* 2012).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Determinar se as diferentes populações de *Biopyrellia bipuncta* estudadas diferem fenotipicamente, usando como característica a morfometria da asa.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar o grau de variação fenotípica entre as populações.
- Testar se as diferenças nas variáveis ambientais entre as populações estudadas podem causar as diferenças morfológicas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Espécimes utilizados

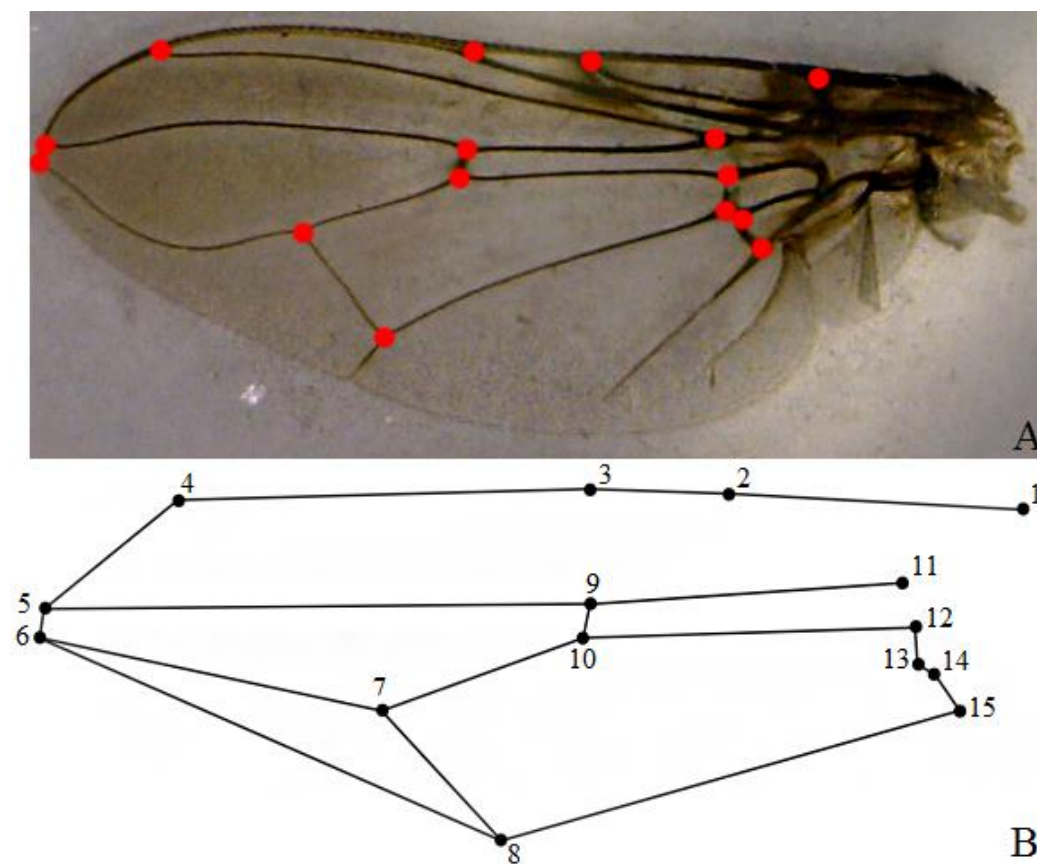
O material utilizado está depositado na coleção entomológica Pe. Jesus Santiago Moure pertencente ao departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, e também na coleção do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Foram utilizados 103 espécimes fêmeas de seis regiões, sendo elas: Campinas-SP (n=30), Ilha de Maracá-RR (n=13), Jundiá do Sul-PR (n=11), Linhares-ES (n=30), Repartimento-PA (n=5) e Vilhena-RO (n=14) (Figura I).



**Figura I.** . Distribuição geográfica das populações de *B. bipuncta* utilizadas no estudo: 1. Jundiá do Sul (-23°26' -50°14'); 2. Campinas (-22°54' -47°03'); 3. Linhares (-19°23' -40°04'); 4. Vilhena (-12°44' -60°08'); 5. Repartimento (-04°22' -50°01'); 6. Ilha de Maracá (03°41' -61°66').

### 3.2 Preparo do Material

Todas as análises (GPA, MANOVA, PLS, CVA, Validação cruzada, tamanho do centroide), os marcos anatômicos (Tabela I) e todo o processo metodológico de preparação da asa foram iguais ao do primeiro capítulo, exceto que no caso de *B. bipuncta* foi utilizada a asa esquerda dos espécimes (Figura II), pois a asa direita dos exemplares não apresentavam condições ideais para o estudo morfométrico, mas sem alterações na natureza e na ordem da inserção dos marcos anatômicos.



**Figura II.** Vista dorsal da asa esquerda de *Biopyrellia bipuncta* com os 15 marcos anatômicos posicionados (A) e forma geral da asa a partir da posição dos 15 marcos (B). Os pontos representam os marcos e a numeração a ordem de introdução dos mesmos. Fonte: Acervo pessoal.

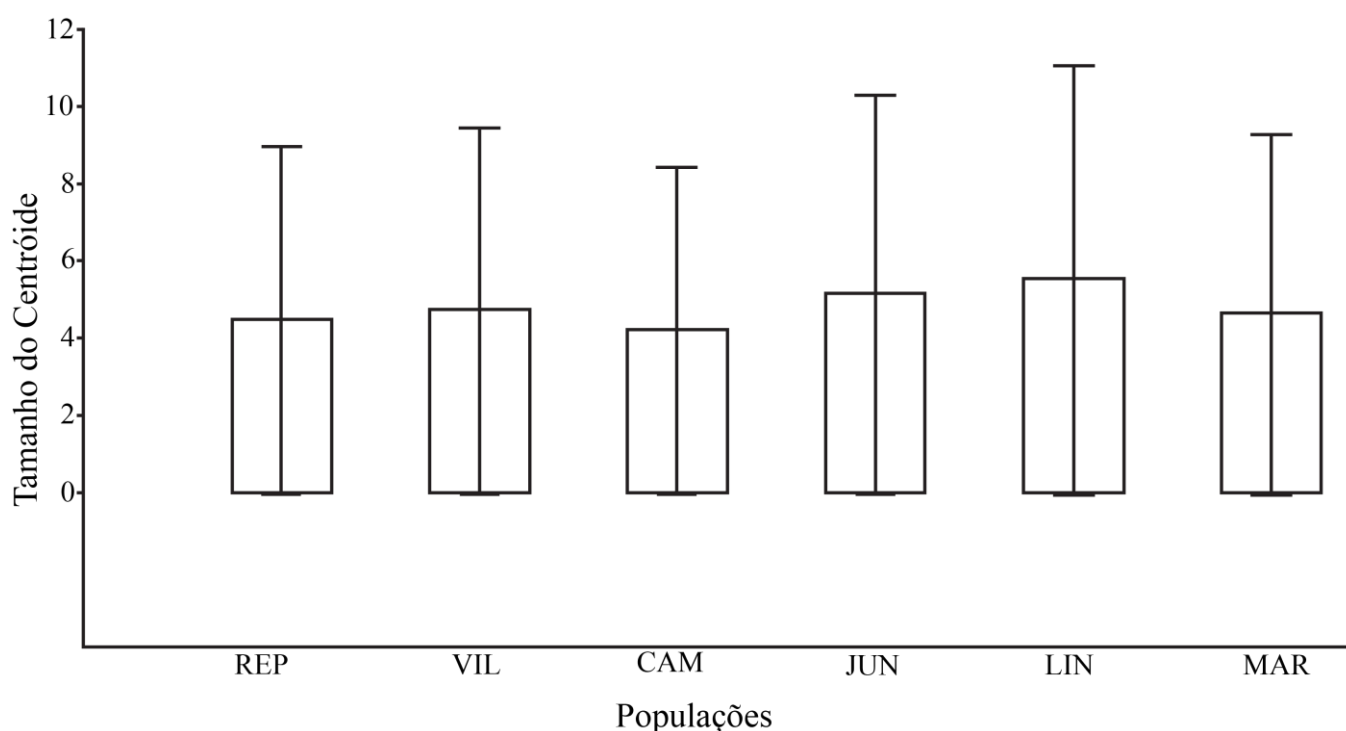


**Tabela I.** Listagem dos 15 marcos anatômicos utilizados para descrever a forma das asas em *B.bipuncta*.

Marco anatômico	Descrição (Intersecção entre veias)
1	C e h
2	C e Sc
3	C e R <sub>1</sub>
4	C e R <sub>2+3</sub>
5	C e R <sub>4+5</sub>
6	C e M
7	bm-cu e M
8	bm-cu e CuA <sub>1</sub>
9	R <sub>4+5</sub> e r-m
10	M e r-m
11	R <sub>2+3</sub> e R <sub>4+5</sub>
12	M e dm-cu
13	CuA <sub>1</sub> e dm-cu
14	CuA <sub>1</sub> e CuA <sub>2</sub>
15	A <sub>1</sub> e CuA <sub>2</sub>

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente foi explorado o valor do centróide das populações no intuito de verificar se as mesmas variam em tamanho (Figura III), os centróides não apresentaram valores muito diferenciados entre as populações, variando entre 4 e 5,5mm e não diferindo estatisticamente ( $F=0,090$ ;  $p=0,987$ ).



**Figura III.** Variação do tamanho do centróide (mm) das populações de *B. bipuncta* estudadas. Notar todas as populações com valores semelhantes. CAM: Campinas, JUN: Jundiaí do Sul, MAR: Ilha de Maracá, REP: Repartimento, VIL: Vilhena.

Diferentemente do tamanho da asa, a forma varia entre as populações ( $p<0,001$ ,  $\lambda_{\text{wilks}}=0,038$ ;  $F=6,26$ ). Porém ao analisar a forma par-a-par foi possível observar que a população de Repartimento (PA) não diferiu significativamente das outras populações do Norte (Vilhena e Maracá;  $p=0,110$ ), mas diferiu das demais. Essa homogeneidade fenotípica dessa população pode ser devido ao baixo tamanho amostral, embora outras possibilidades existam.

Ao reduzir o espaço de forma através da maximização da diferença entre os grupos foi fornecido cinco eixos principais que explicam a variação nos dados. No entanto, as variáveis canônicas um (CV1) e a dois (CV2) conjuntamente explicam 82% da variação observada (Tabela II).

**Tabela II.** Análise das Variáveis Canônicas entre as populações de *B. bipuncta* estudadas. Observar os dois primeiros eixos representando conjuntamente 82% da variação.

Variável Canônica	Autovalores	% de Variância	%de Variância Acumulada
CV1	4,196	69,179	69,179
CV2	0,834	13,758	82,936
CV3	0,493	8,137	91,074
CV4	0,344	5,686	96,760
CV5	0,196	3,240	100,000

A partir da posição das populações nos dois primeiros eixos canônicos (Figura IV) e das deformações potenciais das asas nos quadrantes (Figura V) é possível observar que as populações do norte apresentaram um padrão, posicionadas no quadrante positivo da CV1 e negativo da CV2.

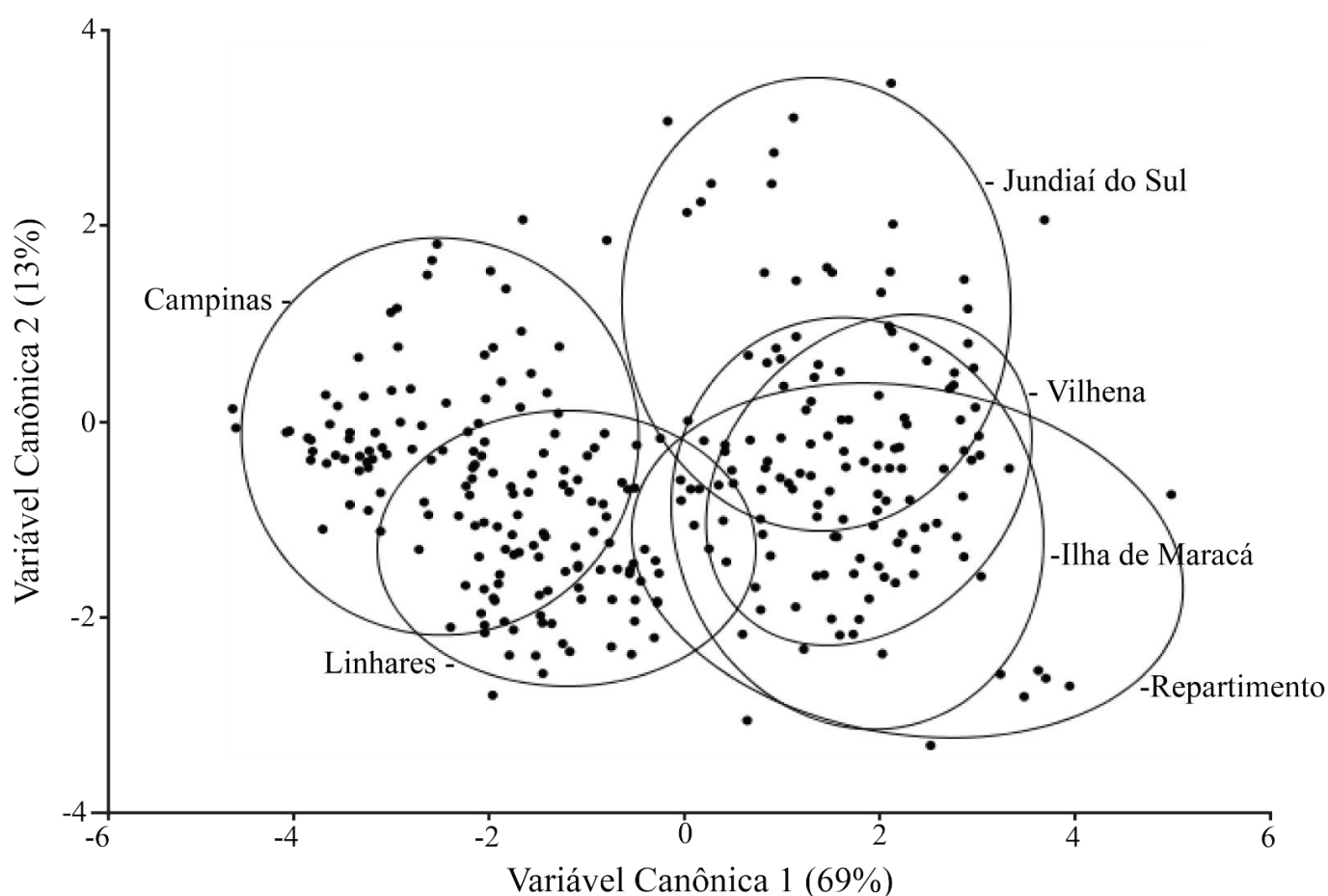
Já, as populações situadas mais ao sul não apresentaram um padrão em que agrupasse as mesmas, sendo que Campinas e Linhares se posicionaram no quadrantenegativo da CV1 e da CV2, e Jundiaí do Sul apresentou a CV1 e a CV2 positivas.

As populações com a CV1 positiva (Jundiaí do Sul, Maracá, Repartimento e Vilhena) (Figuras IV e V), possuem os primeiros marcos do sentido anterior (1, 2 e 3) situados levemente abaixo da configuração média e o *landmark* 4 deslocado basalmente, fazendo com que ocorra um leve afilamento da região apical.

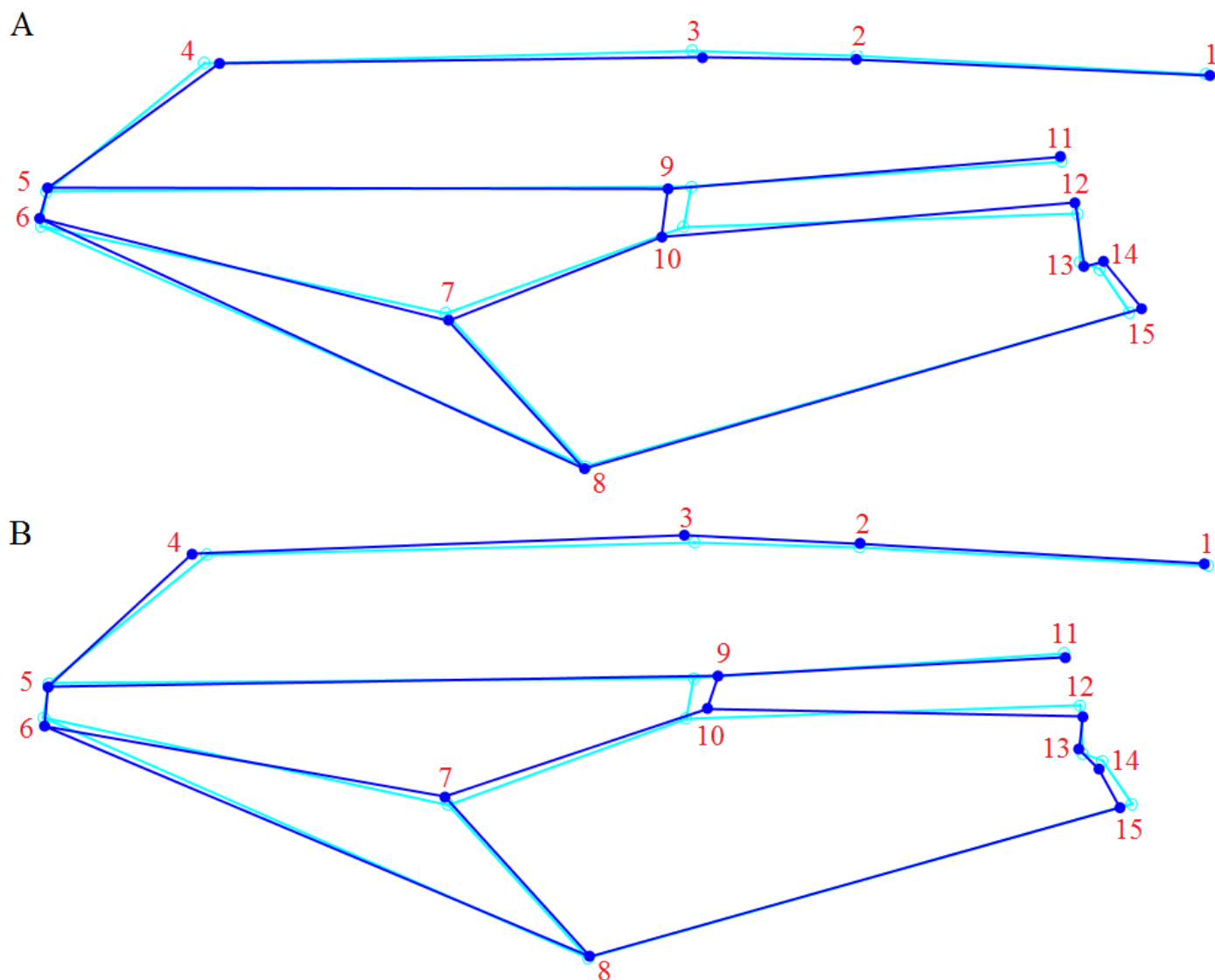
Os marcos anatômicos 5 e 6 apresentam-se mais aproximados entre si, a veia transversal r-m (marcos 9 e 10) deslocada para o sentido apical estendendo a região alar basal. A bm-cu (marcos 7 e 8) abaixo da configuração consenso, os *landmarks* 11, 12 e 14 da região basal situados acima da configuração média, e os marcos 14 e 15 com deslocamento basal.

Os grupos com a CV1 negativa (Campinas e Linhares) (Figuras IV e V), possuem os *landmarks* anteriores (1, 2 e 3) situados levemente acima da configuração média, e o marco anatômico 4 com deslocamento apical, fazendo com que o ápice tenha uma conformação mais robusta.

Os marcos 5 e 6 apresentam-se mais afastados, a veia transversal bm-cu (marcos 7 e 8) com um leve deslocamento anterior e a r-m (marcos 9 e 10) com deslocamento basal, fazendo com que haja uma extensão na região apical da asa. Os landmarks 11, 12 e 14 encontram-se deslocados abaixo da configuração média, e os marcos 14 e 15 com forte deslocamento apical.



**Figura IV.** Posição das populações de *B. bipuncta* no espaço formado pelos dois primeiros eixos canônicos. As elipses indicam intervalo de confiança de 95%.



**Figura V.**Reconstrução gráfica da forma da asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no primeiro eixo canônico (CV1) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da variável canônica.

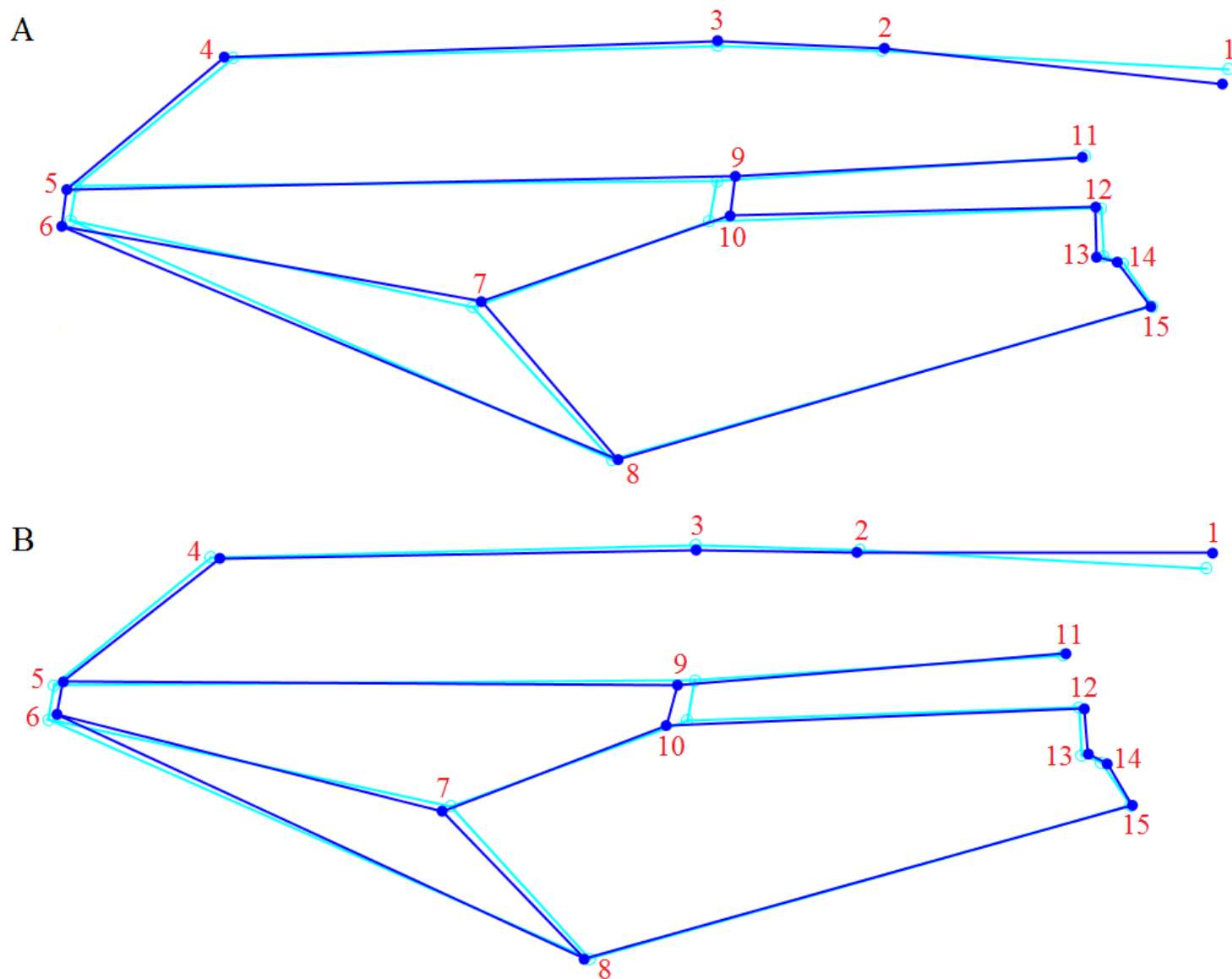
Na análise da variável canônica 2 (CV2), é possível observar que nas populações que tem escores positivos (Jundiaí do Sul e parte da amostragem de Campinas) (Figura IV e VI), o primeiro *landmark* encontra-se fortemente situado abaixo da configuração consenso, os marcos anatômicos 2 e 3 levemente acima, os marcos 4,5 e 6 possuem deslocamento apical, fazendo com que a asa tenha uma leve expansão na região apical.

A veia transversal bm-cu (marcos 7 e 8) possui um deslocamento no sentido basal acompanhando o mesmo sentido da veia r-m, fazendo com que a parte apical da asa sofra uma expansão. Os marcos basais 11, 12, 13 e 14 estão levemente deslocados

para o sentido apical e o *landmark* 15 quase não sofre modificações quanto ao seu deslocamento.

As populações que possuem escores da CV2 negativos (Linhares, Maracá, Repartimento e Vilhena) o marco anatômico 1 está acima da configuração média, os *landmarks* 2, 3 e 4 levemente abaixo, sendo o 4 com deslocamento basal juntamente com os marcos 5 e 6, fazendo com que ocorra um leve encurtamento da região apical da asa.

As veias transversais bm-cu (marcos 7 e 8) e r-m (marcos 9 e 10) estão apicalmente deslocadas sendo que na r-m esse deslocamento é mais significativo, esse deslocamento provoca uma expansão na região basal e um encurtamento da região apical da asa. E os marcos 11,12,13 e 14 apresentam projeção basal, o *landmark* 15 não apresenta um deslocamento muito evidente, ficando sobreposto a configuração consenso.



**Figura VI.** Reconstrução gráfica da forma das asas de indivíduos com escores positivos (A) e negativos (B) no segundo eixo canônico (CV2) (aumentado 10 vezes). As linhas em azul claro demonstram a configuração consenso da asa, e em azul escuro da variável canônica.

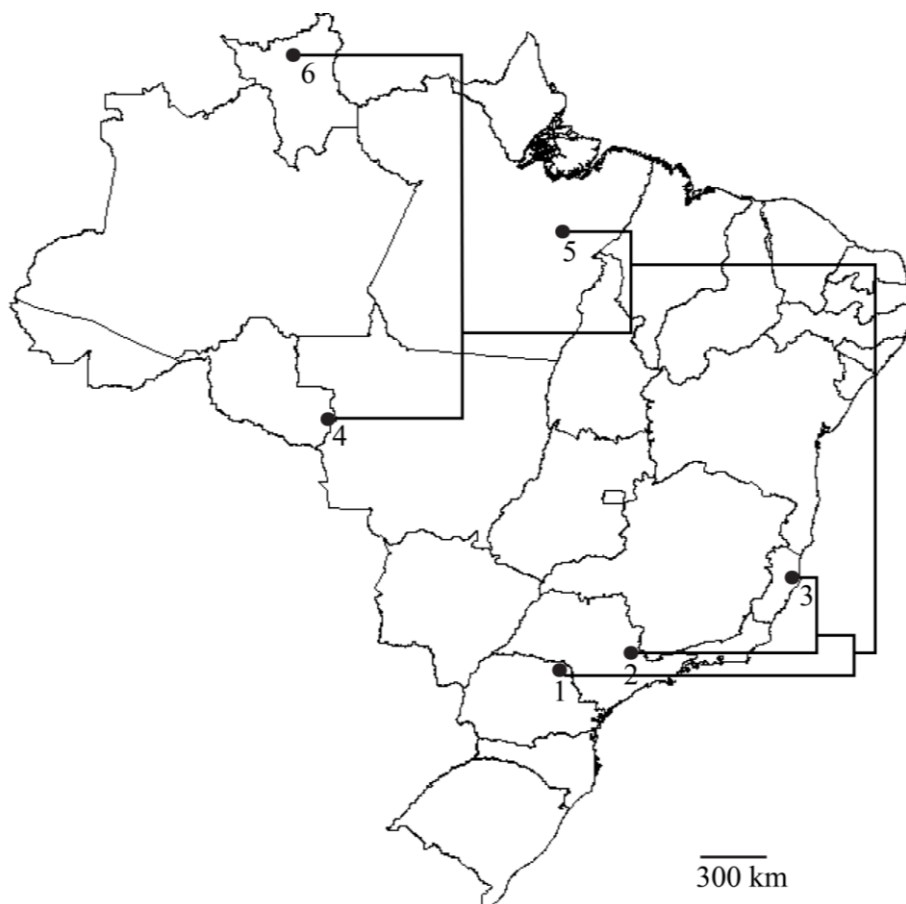
Os testes de validação cruzada indicam que o valor de alocação correta dos indivíduos em seus respectivos grupos é, em média, de 87%, variando entre 78 e 94% (Tabela III), não apresentando valores altos de validação cruzada. O baixo tamanho amostral de Repartimento também reflete-se no resultado da validação cruzada, sendo a população com o menor valor encontrado (78%).

**Tabela III.** Valores de classificação correta das populações de *B. bipuncta* estudadas. Notar o intervalo de alocação entre 78 e 94%.

<b>População</b>	<b>Valor de Alocação (%)</b>
Campinas	94,20
Jundiaí do Sul	88,20
Linhares	92,60
Macará	85,80
Repartimento	78,20
Vilhena	87,80

A análise de agrupamentos por distância de Procrustes formou dois grupos distintos (Figura VII), um com as populações que situam-se ao norte e outro com as populações mais ao sul. Ao analisar os grupos é possível observar que no agrupamento do sul, Campinas ficou em um núcleo com Linhares e Jundiaí do Sul ficou externa ao grupo, porém Jundiaí do sul é mais próximo e possui altitude mais semelhante a Campinas do que Linhares. O mesmo ocorreu com o grupo do norte, onde Repartimento é mais próximo e possui altitude semelhante a Maracá do que Vilhena, e no dendrograma Vilhena ficou agrupado com Maracá e Repartimento ficou mais externamente. Essa falta de consistência do efeito da altitude e distância geográfica, pode ser indício de que outras variáveis estejam interferindo na forma.





**Figura VII.** Dendrograma de similaridade fenotípica gerado pela distância de Procrustes, notar os dois maiores agrupamentos formados. 1. Jundiá do Sul; 2. Campinas; 3. Linhares; 4. Vilhena; 5. Repartimento; 6. Ilha de Maraca.

No intuito de analisar se todas essas variações da forma estão correlacionadas com o tamanho, foi realizada uma regressão entre as distâncias de procrustes e o tamanho do centroide e a mesma não apresentou-se significativa ( $p=0,110$ ;  $r^2=0,0871$ ), indicando que a diferença na forma das populações não está relacionada com o tamanho dos espécimes.

Analisando o resultado da PLS (Tabela IV), verifica-se que todas as dimensões são significativas, mas ao analisar o valor singular e a covariação é possível observar que a PLS1 possui um valor maior do que as demais e também uma covariação maior (93%). Portanto o resultado desta análise é unidimensional sendo que a PLS1 está mais relacionada com a forma do que as demais. Verifica-se também que a “Latitude” e a “Precipitação da estação mais fria” possuem os maiores valores negativos, -0,50 e -0,39 respectivamente, portanto essas variáveis estão associadas as populações que se posicionam na região negativa no gráfico da PLS (Figura VIII). E as variáveis “Altitude” e “Precipitação da estação mais quente” possuem os maiores valores positivo, 0,38 e

0,34 respectivamente, indicando que essas variáveis estão associadas as populações que encontram-se positivas no gráfico da PLS.

**Tabela IV.** Resultado da PLS entre a forma e as variáveis ambientais com altitude. Notar a PLS1 com maior valor que as demais.

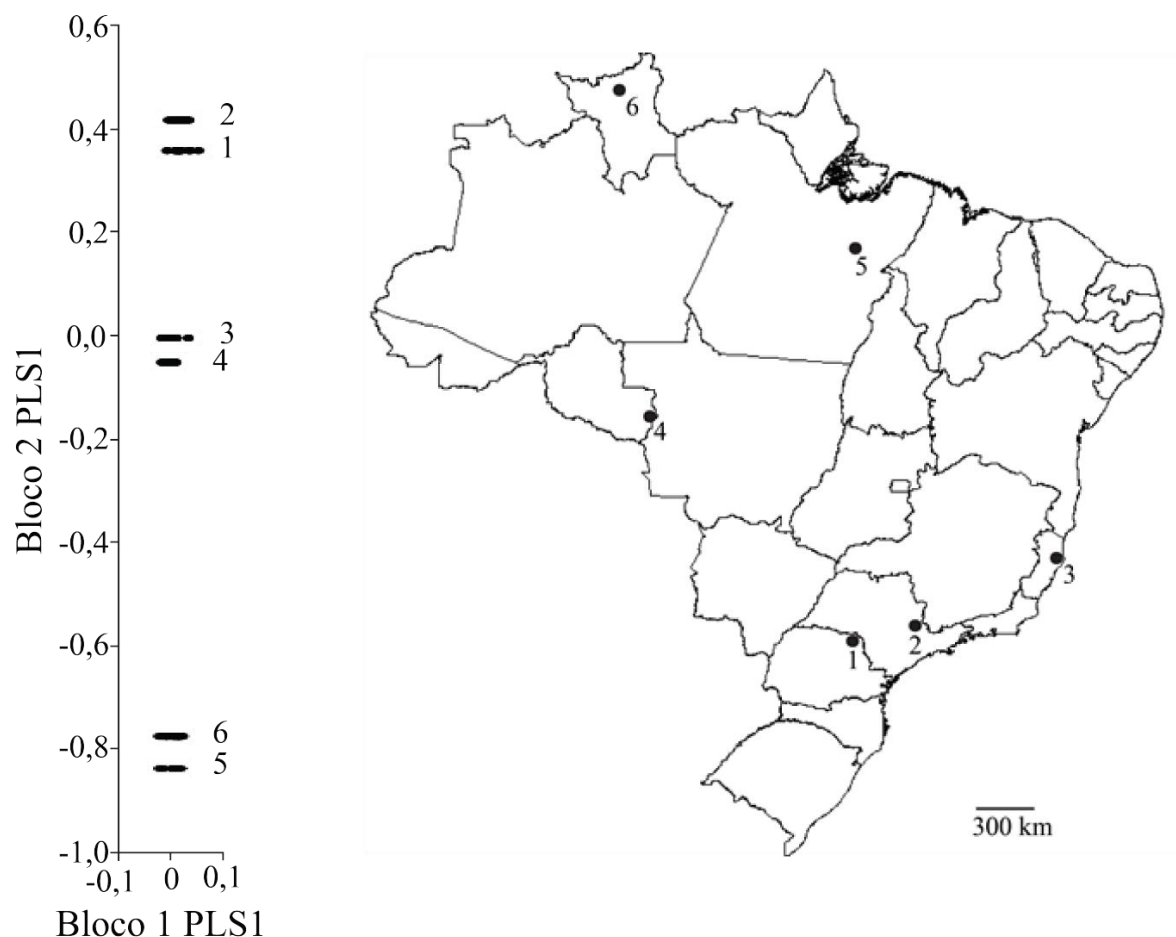
Variável	Dimensões				
	1	2	3	4	5
Latitude	-0,509	-0,082	0,164	0,261	0,528
Longitude	0,087	0,020	-0,222	-0,186	-0,082
Altitude	0,389	-0,276	0,624	-0,178	0,156
Temperatura média anual	-0,093	0,028	-0,051	0,001	0,014
Intervalo médio diurno	0,029	-0,017	0,195	0,048	-0,075
Isotermalidade	-0,108	-0,029	0,046	-0,029	0,143
Sazonalidade de temperatura	-0,267	-0,119	0,450	0,478	-0,170
Temperatura máxima do mês mais quente	0,052	0,040	0,004	0,029	-0,062
Temperatura mínima do mês mais frio	-0,236	0,061	-0,166	-0,001	0,055
Intervalo de temperatura anual	0,129	0,016	0,171	0,057	-0,174
Temperatura média da estação mais úmida	-0,039	0,042	-0,049	-0,039	0,038
Temperatura média da estação mais seca	0,007	0,519	0,193	0,032	0,199
Temperatura média da estação mais quente	-0,052	0,043	-0,059	-0,028	0,036
Temperatura média da estação mais fria	-0,150	0,012	-0,057	0,038	-0,040
Precipitação anual	-0,142	-0,072	0,186	-0,089	-0,456
Precipitação do mês mais úmido	-0,167	-0,209	0,088	-0,194	-0,138
Precipitação do mês mais seco	0,066	0,637	0,272	-0,113	0,027
Sazonalidade de precipitação	-0,061	-0,308	-0,113	-0,134	0,304
Precipitação da estação mais úmida	-0,171	-0,184	0,107	-0,181	-0,242
Precipitação da estação mais seca	0,007	0,519	0,193	0,032	0,199
Precipitação da estação mais quente	0,349	-0,169	0,032	-0,036	0,396
Precipitação da estação mais fria	-0,392	0,058	0,202	-0,714	0,108
Valores singulares	0,00283	0,00050	0,00046	0,00026	0,00011
Valor de p	<.0001	0,0258	<.0001	<.0001	0,0005
Covariação (%)	93,505	2,985	2,556	0,788	0,166
Correlações	0,572	0,272	0,403	0,325	0,279

Coeficiente de associação entre os blocos: 0,206

Ao analisar o gráfico da PLS (Figura VIII) fica evidente o efeito das variáveis ambientais na forma alar das populações estudadas. Em uma análise no sentido do sul para o norte aumentando a latitude, as duas primeiras populações (Jundiaí do Sul e Campinas) estão associadas positivamente com a PLS estando relacionadas com a altitude e precipitação da estação mais quente. Os valores altitudinais das populações verifica-se que Campinas e Jundiaí do Sul possuem altitudes de 610m e 543m respectivamente, sendo as maiores altitudes das populações estudadas.

A medida que se aumenta a latitude verifica-se que a população de Linhares (população 3) comporta-se de forma interessante na análise, apresentando-se no ponto zero no gráfico, não respondendo a nenhuma variável estudada, situando-se como uma área de transição da PLS. A partir dela ocorre uma inversão da resposta fenotípica as variáveis estudadas, diminuindo o efeito altitudinal das populações do norte (que possuem as menores altitudes das populações estudadas).

A partir de Vilhena (população 4) o fenótipo das populações começa a ser moldado principalmente pela precipitação da estação mais fria e latitude. Iniciando-se uma forte influência latitudinal na forma alar, ou seja a distância geográfica começa a ser um fator importante na forma da asa. As populações de Maracá (população 6) e Repartimento (população 5) encontram-se com os maiores valores negativos, estando associadas de maneira mais significativa com a latitude.

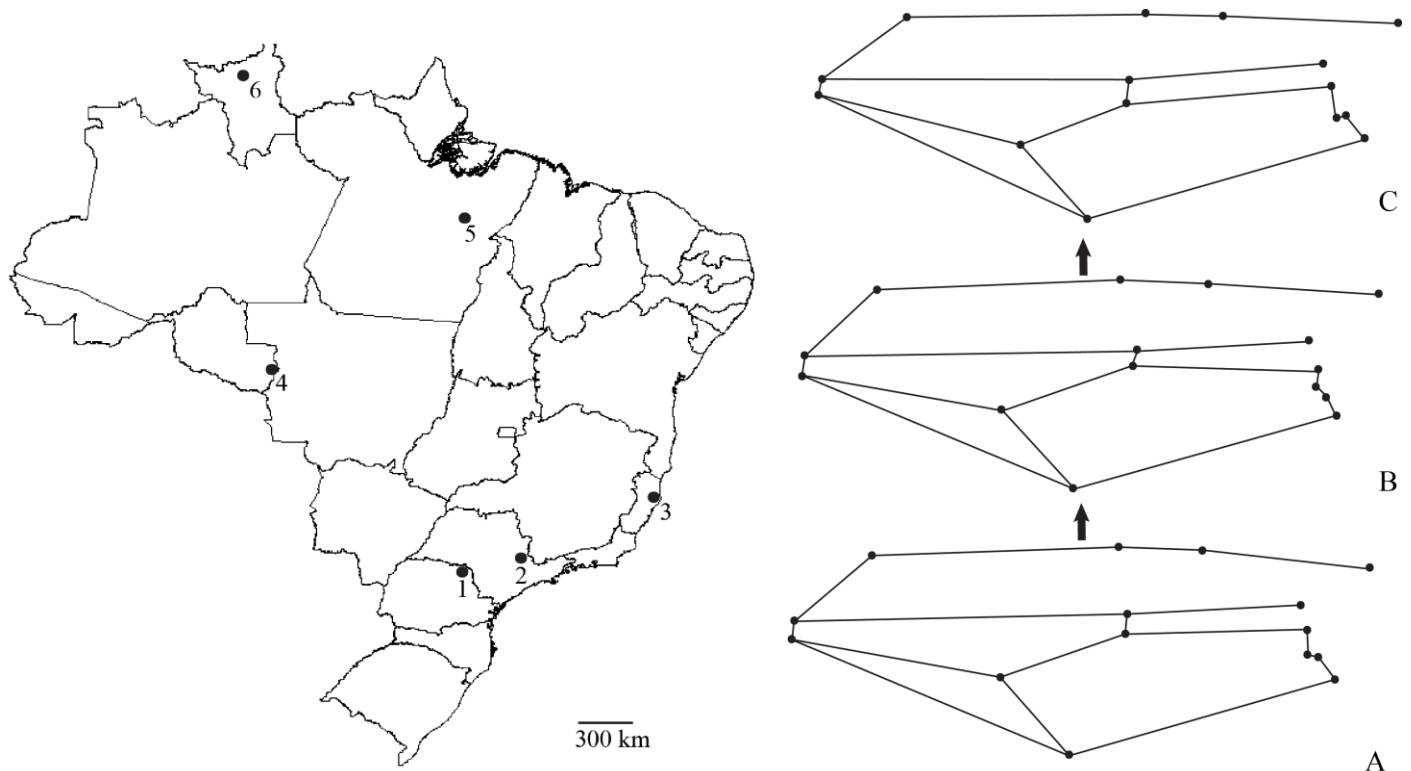


**Figura VIII.** Gráfico da PLS. Observar os agrupamentos formados com Campinas e Jundiá do Sul respondendo positivamente, Linhares não respondendo a análise, Repartimento e Ilha de Maracá respondendo negativamente a análise. 1. Jundiá do Sul; 2. Campinas; 3. Linhares; 4. Vilhena; 5. Repartimento; 6. Ilha de Maracá.

Embora todas as populações apresentem diferenças morfológicas (exceto Repartimento), estas diferenças estão associadas a pequenas mudanças na posição de certos *landmarks*, sendo que as asas conservam um padrão geral de configuração.

Esse padrão é visível ao se associar a análise morfométrica com a distribuição geográfica das populações (Figura IX). É possível observar que em um sentido sul/norte as populações do sul (Campinas, Jundiá do Sul e Linhares) possuem uma leve expansão na região apical da asa e uma constrição na região basal. À medida que aumenta a latitude a asa apresenta-se de forma contrária, onde nas populações de maior latitude (Ilha de Maracá, Repartimento e Vilhena) ocorre uma leve constrição na região apical e uma expansão na região basal. Sendo que essas diferenças ocorrem principalmente devido ao deslocamento da veia transversal r-m.

Embora a população de Jundiá do Sul não esteja agrupada com as populações do sul no gráfico da CVA, a mesma possui a CV2 positiva fazendo com que se aproxime fenotipicamente das populações do sul (para maiores detalhes ver a análise par-a-par no anexo do capítulo).



**Figura IX.** Construção aproximada dos padrões alares associados com a distribuição geográfica. Asa da população 1, com CV1 e CV2 positivas (A); asa das populações 2 e 3 com CV1 e CV2 negativas (B); asa das populações 4,5 e 6 com CV1 positiva e CV2 negativa (C). 1.Jundiá do Sul; 2.Campinas; 3. Linhares; 4.Vilhena; 5. Repartimento; 6. Ilha de Maracá.

Foi testado se a forma está associada com o tamanho, e não foi verificado uma correlação significativa, isto pode ser um indício de que as populações estudadas estejam sofrendo pressões gênicas diferentes. Alterações na forma possuem uma maior influência genética que alterações no tamanho que são causadas principalmente por fatores ambientais (Black IV & Krafur 1986), e genes associados a alterações na forma já foram identificados em estudos com *Drosophila* (Cavicchi *et al.* 1978).

Neste estudo não foram verificadas diferenças significativas de tamanho entre as populações. Em 1847 Bergman desenvolveu a conhecida “regra de Bergman”, onde

seguindo a regra com o aumento da latitude os organismos aumentariam de tamanho, porém neste trabalho isto não ocorreu, outros trabalhos também demonstram que certos grupos de insetos não obedecem esta regra, e que em alguns grupos ocorre o inverso com organismos diminuindo de tamanho (Sanzana *et al.* 2013).

Outros muscídeos já demonstram seguir a regra de Bergman, sendo que Alves & Beló (2002) em estudos com morfometria tradicional em *Musca domestica* L. verificaram correlação com a latitude, em que com o aumento da latitude ocorreu aumento no tamanho dos espécimes. Com trabalhos morfométricos de *Musca vetustissima* W., Paterson & Norris (1970) verificaram a existência de um efeito clinal no tamanho dos olhos dos machos em uma direção de norte a sul da Austrália. Em estudos com a mesma espécie Greenham & Hughes (1971) avaliaram morfometricamente a fronte e obtiveram o mesmo padrão clinal de norte a sul.

As variações da forma alar de *B. bipuncta* nas populações estudadas estão associadas principalmente com a latitude, precipitação e altitude. Trabalhos associando a variação morfométrica com a precipitação são escassos, principalmente em estudos entomológicos, sendo que semelhante a correlação feita neste estudo, Cardini *et al.* (2007) encontraram variações na forma de crânios de macacos e as relacionaram a diferenças na precipitação.

A variável altitude apresentou-se significativa com as populações de maiores altitudes na amostragem (Campinas e Jundiá do Sul). Na literatura existem trabalhos que descartam a importância da altitude na variação morfométrica (Yurtas *et al.* 2005). Porém, vários outros estudos já demonstraram sua correlação com variações morfométricas (Belen *et al.* 2004), e sua implicação em questões aerodinâmicas de insetos (Demirci *et al.* 2012), sendo uma importante variável em estudos morfométricos (Sanzana *et al.* 2013).

A latitude, foi a variável mais significativa neste estudo. Entretanto alguns estudos falharam em associar diferenças morfométricas com a variação latitudinal (Motoki 2012). Já trabalhos com outros grupos demonstraram o efeito latitudinal na variação da forma dos organismos (Sanzana *et al.* 2013; Outomuro *et al.* 2011), sendo descritas clinas latitudinais (James *et al.*, 1997)

Assim como neste trabalho, o efeito latitudinal já demonstrou ser uma importante variável em outros grupos de insetos. Em estudos com *Helicoverpa armigera* H. (Lepidoptera: Noctuidae), Khiaban *et al.* (2010) detectaram uma correlação significativa entre a variação morfométrica e a distância geográfica. Pires *et al.* (2008) em estudos com *Platyscytus decempunctatus* C. (Heteroptera: Miridae) também encontraram variações morfométricas associadas à distância geográfica. Kiyoshi & Hikida (2012) encontraram diferenças morfométricas associadas à latitude em *Anotogaster sieboldii* S. (Odonata: Cordulegastridae). Monroy (2003) atribui o efeito latitudinal como uma importante variável na estruturação populacional de *Triatoma nítida* U. (Hemiptera: Reduviidae).

A menor distância geográfica entre as populações deste estudo é entre Campinas e Jundiá do Sul (cerca de 300km), e outros estudos demonstraram que populações mais próximas podem diferir morfometricamente. Como é o caso de Alibert *et al.* (2001) que detectaram variações morfométricas de *Carabus auronitens* F. (Coleoptera: Carabidae) em populações distantes cerca de 40km.

Especificamente em dípteros, Hoffmann & Shrrifs (2002) em estudos com *Drosophila serrata* T. encontraram correlação entre a morfometria com a latitude, com as asas mais íngremes em latitudes maiores. Os resultados encontrados por Hoffmann & Shrrifs diferem em parte deste trabalho, pois neste trabalho apesar de terem sido encontradas variações associadas com a latitude, estas variações não foram muito bruscas nas asas, e sim ocorreu uma leve constrição na região apical e uma expansão na região basal.

Gilchrist *et al.* (2000) em estudos com *Drosophila melanogaster* detectaram uma correlação linear entre a latitude e as variáveis canônicas. Diferindo também em partes deste trabalho, onde mesmo com a correlação entre a latitude não houve uma clara correlação com as variáveis canônicas.

Semelhantemente a este trabalho, Franco *et al.* (2008) estudaram a variação do edeago de *Drosophila serido* T. (Diptera: Drosophilidae) em oito populações diferentes, e constataram que todas as populações variaram na forma da estrutura e associaram essa variação a distância geográfica.

Neste trabalho não houve evidências de isolamento geográfico entre as populações, Rangel *et al.* (1996) utilizando a morfometria tradicional associando com análises de DNA em Psychodidae, mostraram evidências de um possível isolamento geográfico de duas populações no Brasil.

Morais (2011) em estudos com *Culex quinquefasciatus* S. (Diptera: Culicidae) encontraram diferenças significativas entre populações distantes geograficamente, e poucas diferenças entre populações próximas. Da mesma forma, Bouyer (2007), em estudos com *Glossina palpalis gambiensis* V. (Diptera:Glossinidae) observou que populações que se encontravam mais distantes apresentavam diferentes conformações alares. Resultados semelhantes foram observados neste estudo, onde dois grupamentos se formaram pela distância de Procrustes, um com populações situadas ao norte e outro mais ao sul.

Ainda de acordo com a análise de procrustes é possível observar que as populações agruparam-se de acordo com o bioma onde as mesmas se encontram, com as populações 1,2 e 3 agrupadas (bioma Mata Atlântica) e outro grupo formado pelas populações 4,5 e 6 (bioma Amazônia). Da mesma forma, Silva *et al.* (2012) estudando variações morfométricas de *Chagasia fajardi* L. (Diptera: Culicidae), nos biomas Cerrado e Mata Atlântica, encontraram semelhanças morfométricas entre as populações advindas do mesmo bioma.

Portanto para as populações de *B. bipuncta* estudadas nesta amostragem, a distância geográfica é um importante fator na variação morfométrica, tendo alta correlação com as diferenças interpopulacionais encontradas. As variações encontradas provavelmente estão associadas com a eficiência do voo frente a variantes ambientais, onde possíveis pressões gênicas estão interferindo na forma da asa otimizando as características aerodinâmicas, que variam de acordo com o tipo e velocidade do voo do organismo (Dudley 2000).



## **5. CONCLUSÕES**

A morfometria geométrica apresentou-se como uma ferramenta útil aos objetivos propostos no trabalho. Com exceção da população de Repartimento, todas as outras foram discernidas morfometricamente, foi possível detectar a variação par-a-par e também as características ambientais associadas as variações encontradas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, D.C., Rohlf, F.J. & Slice, D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. **Italian Journal of Zoology** **71**: 5-16.
- Alibert, P., Moureau, B., Dommergues, J.-L. & David, B. 2001. Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach. **Zoologica Scripta** **30**: 299–311.
- Alves, S.M. & Bélo, M. 2002. Morphometric variations in the housefly, *Musca domestica* (L.) with latitude. **Genetica** **115**: 243-251.
- Avice, J.C. 2000. **Phylogeography: History and formation of species**. Harvard University Press, London, 447p.
- Barbosa, R.C., Mello-Patiu C.A., Mello, R.P., & Queiroz, M.M.C. 2009. New records of calyptate dipterans (Fanniidae, Muscidae and Sarcophagidae) associated with the decomposition of domestic pigs in Brazil. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz** **104**: 923-926.
- Belen, A., Alten, B. & Aytakin, M. 2004. Altitudinal variation in morphometric and molecular characteristics of *Phlebotomus papatasi* populations. **Medical and Veterinary Entomology** **18**: 343-350.
- Bergmann, C. 1847. Über die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Größe. **Göttinger Studien** **1**: 595–708
- Bookstein, F.L. 1996. Biometrics, biomathematics and morphometrics synthesis. **Bulletin of Mathematical Biology** **58**: 313-365.
- Bouyer, J., Ravel, S., Dujardin, J.P., Meeus T., Vial, L., Thévenon, S., Guerrini, L., Sidibé I, Solano P. 2007. Population Structuring of *Glossina palpalis gambiensi* (Diptera: Glossinidae) According to Landscape Fragmentation in the Mouhoun River, Burkina Faso. **Journal of Medical Entomology** **44**: 788-795.
- Black, IV., & Krafur, W.C. 1986. Geographic variation in the house fly size: adaptation or larval crowding? **Evolution** **40**: 204-206.
- Cardini, A. & O'Higgins, P. 2004. Patterns of morphological evolution in *Marmota* (Rodentia, Sciuridae): geometric morphometrics of the cranium in the context of marmot phylogeny, ecology and conservation. **Biological Journal of the Linnean Society** **82**: 385-407.
- Cardini, A., Jansson, A.U. & Elton, S. 2007. A geometric morphometric approach to the study of ecogeographical and clinal variation in vervet monkeys. **Journal of Biogeography** **34**: 1663-1678.
- Carvalho, C.J.B., & Mello-Patiu, C.A. 2008. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. **Revista Brasileira de Entomologia** **52**: 390-406.

- Cavicchi, S., G. Giorgi, M. Mochi. 1978. Investigation on early divergence between populations of *Drosophila melanogaster* kept at different temperatures. **Genetica** **48**: 81-87.
- Demirci, B., Lee, Y., Lanzaro, G.C., Alten, B. 2012. Altitudinal genetic and morphometric variation among populations of *Culex theileri* Theobald (Diptera: Culicidae) from northeastern Turkey. **Journal of Vector Ecology** **37**: 197-209.
- Dudley, R. 2000. **The Biomechanics of Insect Flight: Form, Function, Evolution**. Princeton, Princeton University Press, 536 p.
- Ferreira, P.S.F., Pires, E.M., Guedes, R.N.C., Mendes, M., & Coelho, L.A. 2006. Seasonal abundance and sexual variation in morphometric traits of *Oxelytrum discicollis* (Brulle, 1840) (Coleoptera: Silphidae) in a Brazilian Atlantic Forest. **Biota Neotropical** **6**: 2-8.
- Fonseca, L.C.M. 2006. Descrição da Arquitetura foliar e Análise Morfométrica das folhas de *Spathocarpa* Hook. (Araceae). Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília. 56 p.
- Franco, F.F., Soto, I.M., Sene, F.M., Manfrin M.H. 2008. Phenotypic Variation of the Aedeagus of *Drosophila serido* Vilela & Sene (Diptera: Drosophilidae). **Neotropical Entomology** **37**: 558-563.
- Gilchrist, A. S. & Partridge, L. 2001. The contrasting genetic architecture of wing size and shape in *Drosophila melanogaster*. **Heredity** **86**: 144-152.
- Greenham, P.M. & Hughes, R.D. 1971. Investigation of a Morphometric Cline in Bushfly Populations from north to south in Australia. **Journal Australian entomological Society** **10**: 261-264.
- Hoffman, A.A. & Shirriffs, J. 2002. Geographic variation for wing shape in *Drosophila serrata*. **Evolution** **5**: 1068-1073.
- James A.C., Azevedo, R.B.R. & Partridge, L. 1997. Genetic and environmental responses to temperature of *Drosophila melanogaster* from a latitudinal cline. **Genetics** **146**: 881-890.
- Karr, J.R. & James, F.C. 1975. **Eco-morphological configurations and convergent evolution of species and communities**. Belknap, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Khiaban, N.G.M.Z., Nejad, K.H.I., Hejaz, M.S., Mohammadi, S.A. & Sokhandan, N. 2010. A geometric morphometric study on geographical Iranian populations of the pod borer, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomological Society of Iran** **29**: 13-24.
- Kiyoshi, T. & Hikida, T. 2012. Geographical Variation in the Wing Morphology of the Golden-ringed Dragonfly *Anotogaster sieboldii* (Selys, 1854) (Odonata, Cordulegastridae) Detected by Landmark-based Geometric Morphometrics. **Bulletin National Museum of Nature and Science** **38**: 65-73.

- Löwenberg-Neto, P. & de Carvalho, C.J.B. 2013. Muscidae (Insecta: Diptera) of Latin America and the Caribbean: geographic distribution and check-list by country. **Zootaxa** **3650**: 001-147.
- Luiz, H.L., Taira, T.L. & Koller, W.W. 2012. New records of Muscidae (Diptera) in Campo Grande, MS, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** **21**: 412-414.
- Mare, A.C., Elio, C. & Schwartz, G. 2004. Morfometria de Papilioninae (Lepidoptera, Papilionidae) ocorrentes em quatro localidades do Rio Grande do Sul, Brasil. I. Comparações com a massa corporal. **Revista Brasileira de Entomologia** **48**: 535-545.
- Marsteller, S. Adams, D.C, Collyer, M.L. & Cordon, M. 2009. Six cryptic species on a single species of host plant: morphometric evidence for possible reproductive character displacement. **Ecological Entomology** **34**: 66-73.
- Meliciano, N.V. 2009. Estudo morfométrico, evolutivo e filogeográfico nas espécies do gênero *Pterophyllum*, Heckel, 1840 (Cichlidae/Heroini) da Bacia Amazônica. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 108p.
- Mendes, J. & Linhares, A.X. 2002. Cattle Dung Breeding Diptera in Pastures in Southeastern Brazil: Diversity, Abundance and Seasonality. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz** **97**: 37-41.
- Morais, S.A. 2011. Relações morfométricas e genética populacional de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. 79p.
- Monroy, C., Bustamante, D.M., Rodas, A., Rosales, R., Mejía, M., Tabaru Y. 2003. Geographic Distribution and Morphometric Differentiation of *Triatoma nitida* Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Guatemala. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz** **98**: 37-43.
- Motoki, M.T, Suesdek, L, Bergo, E.S, Sallum M.A.M. 2012. Wing geometry of *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) in five major Brazilian ecoregions. **Infection, Genetics and Evolution** **12**: 1246-1252.
- Outomuro D., Bokma F. & Johansson F., 2011. Hind wing shape evolves faster than front wing shape in *Calopteryx* damselflies. **Evolutionary Biology** **39**: 116–125.
- Pamplona, D. 1986. Revalidação de *Biopyrellia* Townsend, 1932 com redescritção de *B. bipuncta* (Wiedemann, 1830) (Diptera, Muscidae, Muscinae). **Revista Brasileira de Biologia** **46**: 49-54.
- Peres-Neto, P.R. 1999. **Alguns métodos e estudos em ecomorfologia de peixes de riachos**. 209-236. In: Caramaschi, E.P.; Mazzoni, R. & P.R Peres-Neto (eds.). Ecologia de peixes de Riachos. Série Oecologia Brasiliensis, vol. VI. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil.
- Pires, E.M., Guedes N.R.C., Serrão, J.E., Ferreira, P.S.F. 2008. Seasonal and interpopulation morphometry variation of *Platyscytus decempunctatus* (Carvalho 1945) (Heteroptera: Miridae). **Biota Neotropica** **8**: 39-46.

- Paterson, H.E & Norris, K.R. 1970. The *Musca sorbens* complex: the relative status of the Australian and two African populations. **Australian Journal of Zoology** **18**: 231-245
- Premoli, A.C. 1996. Leaf architecture of South American *Nothofagus* (Nothofagaceae) using traditional and new methods in morphometrics. **Botanical Journal of the Linnean Society** **121**: 25-40
- Prezoto, F. & Gobbi, N. 2005. Morfometria dos estágios imaturos de *Polistes simillimus* Zikán, 1951 (Hymenoptera: Vespidae). **Revista Brasileira de Zoociências**. **7**: 45-54.
- Rangel, E.F., Lainson, R., Souza A.A., Ready P., Azevedo, A.C.R. 1996. Variation between geographical populations of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) *sensu lato* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz** **91**: 43-50.
- Reis, S.F. 1988. Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. **Revista brasileira de Zoologia**, **5**: 571-580.
- Rodrigues, L.A & Santos, V.F. 2003. Morfometria geométrica- aplicação em paleobiologia de dinossáurios. **Ciências da Terra** **5**: A141-A145.
- Santos, C.M., Jurberg, J. & Galvão, C. 2003. Estudo Morfométrico do Gênero *Panstrongylus* Berg, 1879 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias Instituto Oswaldo Cruz** **7**: 939-944.
- Sanzana, J.M., Parra, E.L., Zuniga, E.S. & Benitez H.A. 2013. Latitudinal gradient effect on the wing geometry of *Auca coctei* (Guérin) (Lepidoptera, Nymphalidae), **Revista Brasileira de Entomologia** **57**: 411-416
- Schröder, S.; drescher, W.; steinhage, V. & kastenholz, B. 1995. An Automated Method for the Identification of Bee Species (Hymenoptera: Apoidea). In **Proceedings of the International Symposium on Conserving Europe's Bees: International Bee Research Association & Linnean Society**. pp. 6-7.
- Séguy, E. 1935. **Études sus les Anthomyiides, 9, 10 et 11 notes**. Encyclopédie Entomologique (B,II) Diptera, 8: 97-116.
- Silva, C.A.D., Pires, E.M., Lacerda., M.C., Prezoto, F., Zanuncio, J.C. & Serrao, J.E. 2006. Immature stage and nest characteristics of *Apoica pallens* (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology** **47**: 1-10
- Silva, J.S., Fuente A.C., Freire-Serra M.N., Guimaraes A.E., Sarmento J.S., Alencar J. 2012 Morphometric analysis of *Chagasias fajardi* (Diptera: Culicidae) populations in Brazil. **Revista Colombiana de Entomología** **38**: 276-281.
- Uribe, M.N., Wolff, M., de Carvalho, C.J.B. 2010. Synanthropy and ecological aspects of Muscidae (Diptera) in a tropical dry forest exosystem in Colombia. **Revista Brasileira de Entomologia** **54**: 462-470.

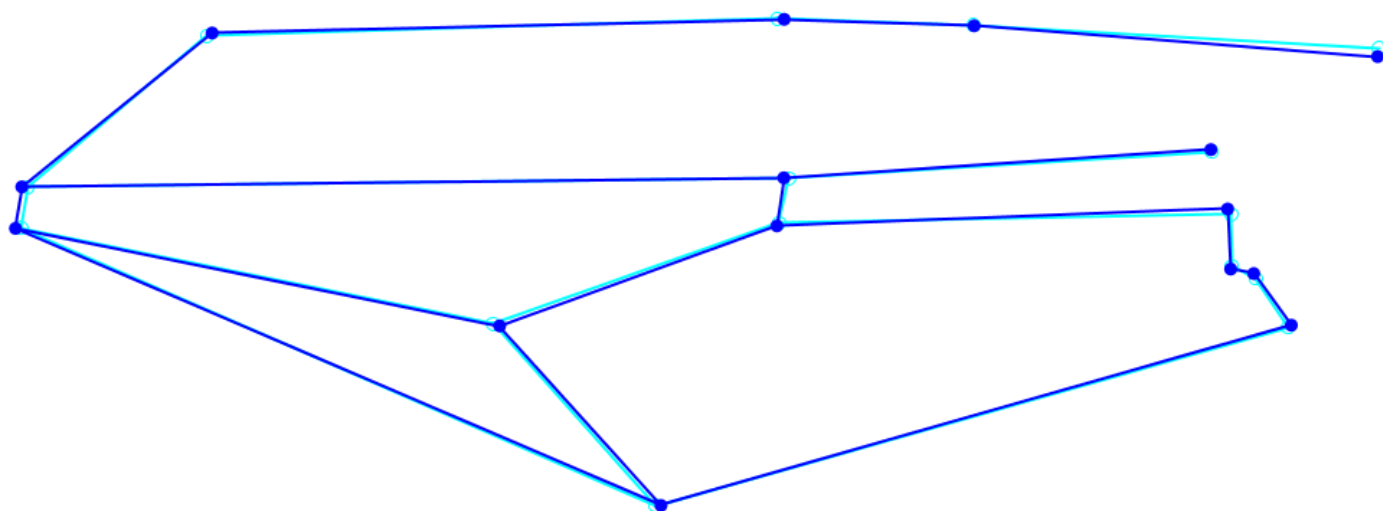
Vaz, L.A.L., Tavares, M.T. & Lomônaco, C. 2004. Diversidade e tamanho de himenópteros parasitóides de *Brevicoryne brassicae* L. e *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology** **32**: 225-230.

Yurttas, H., Alten, B. & Aytekin, A.M. 2005. Variability in natural populations of *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae) from southeast Anatolia, revealed by morphometric and allozymic analyses. **Journal of Vector Ecology** **30**: 2

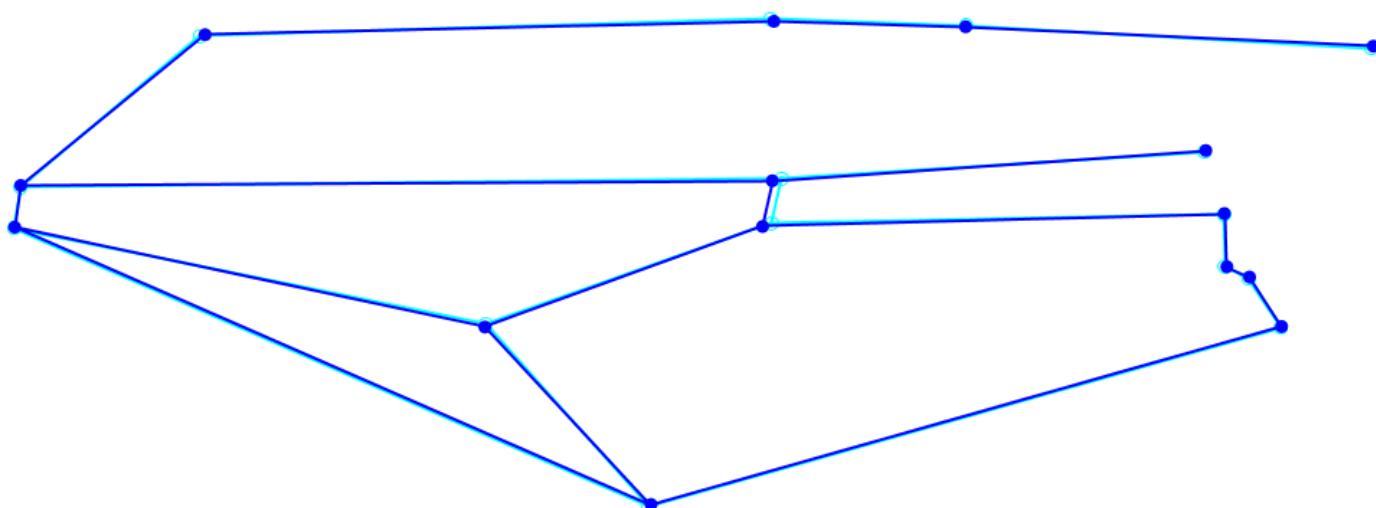
**ANEXO I**

Alterações par-a-par, primeira população: azul claro, segunda: azul escuro.

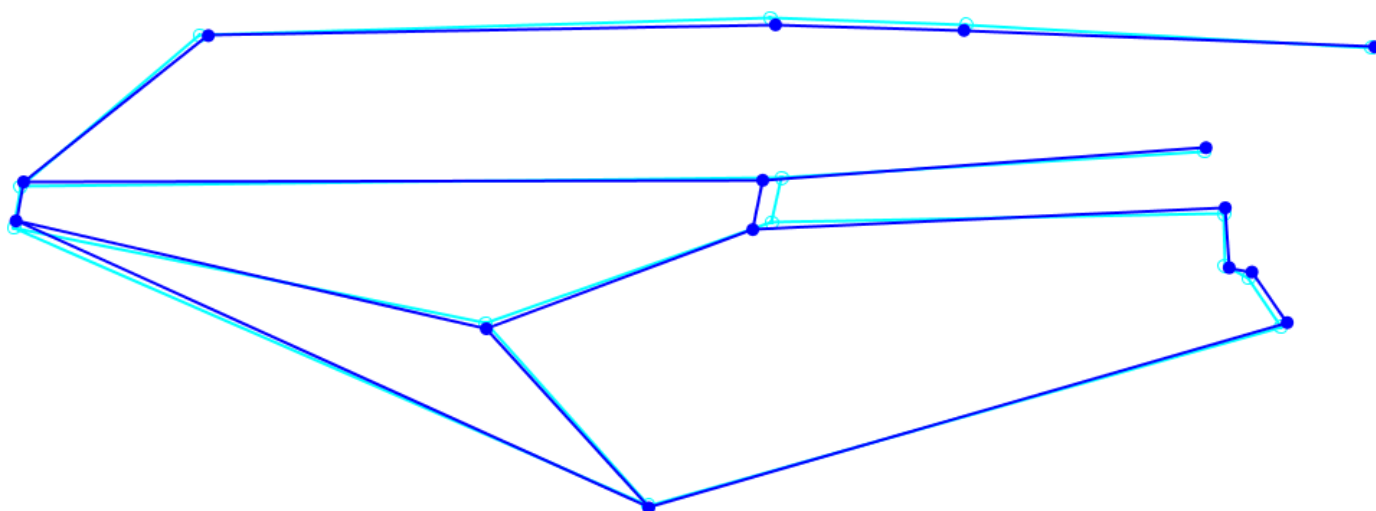
CAMPINAS x JUNDIAÍ DO SUL



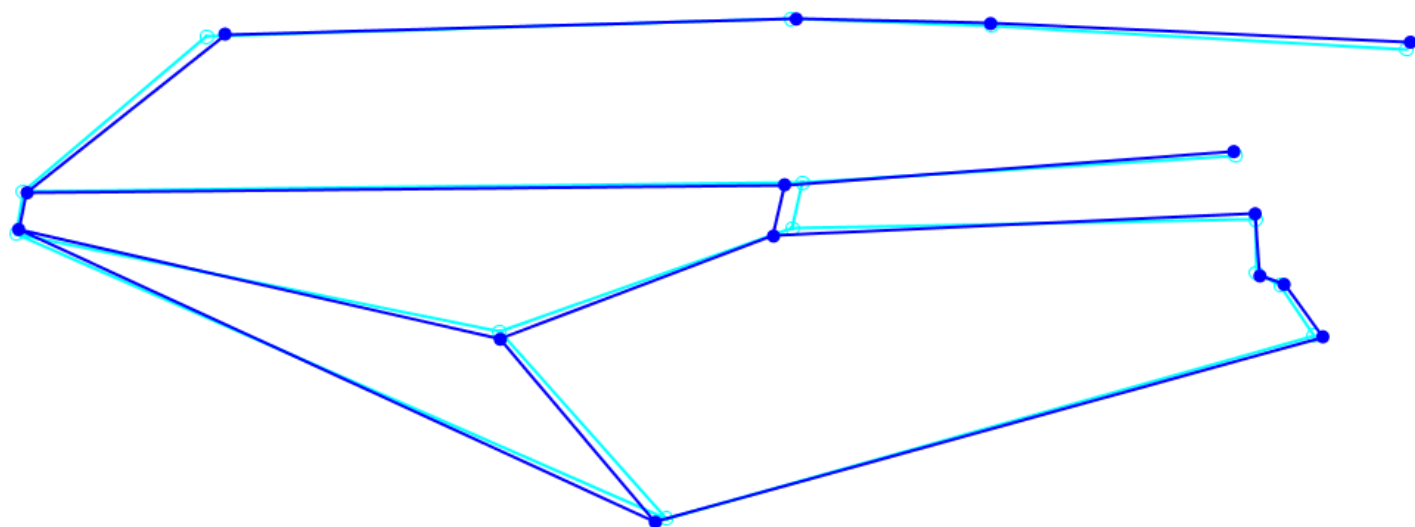
CAMPINAS x LINHARES



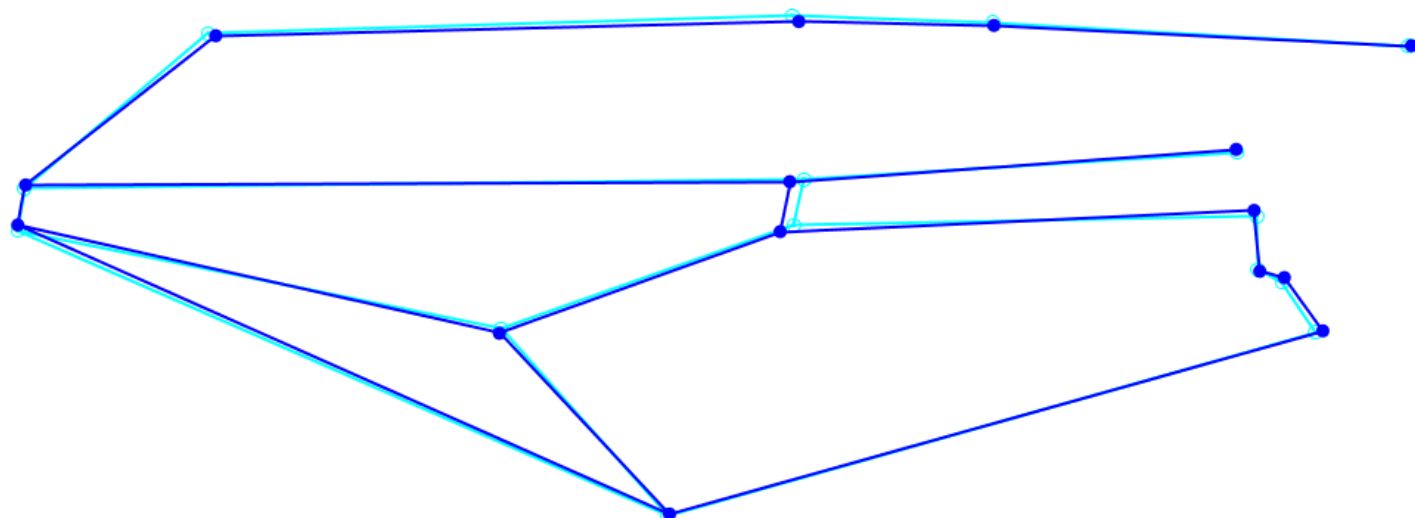
CAMPINAS x MARACÁ



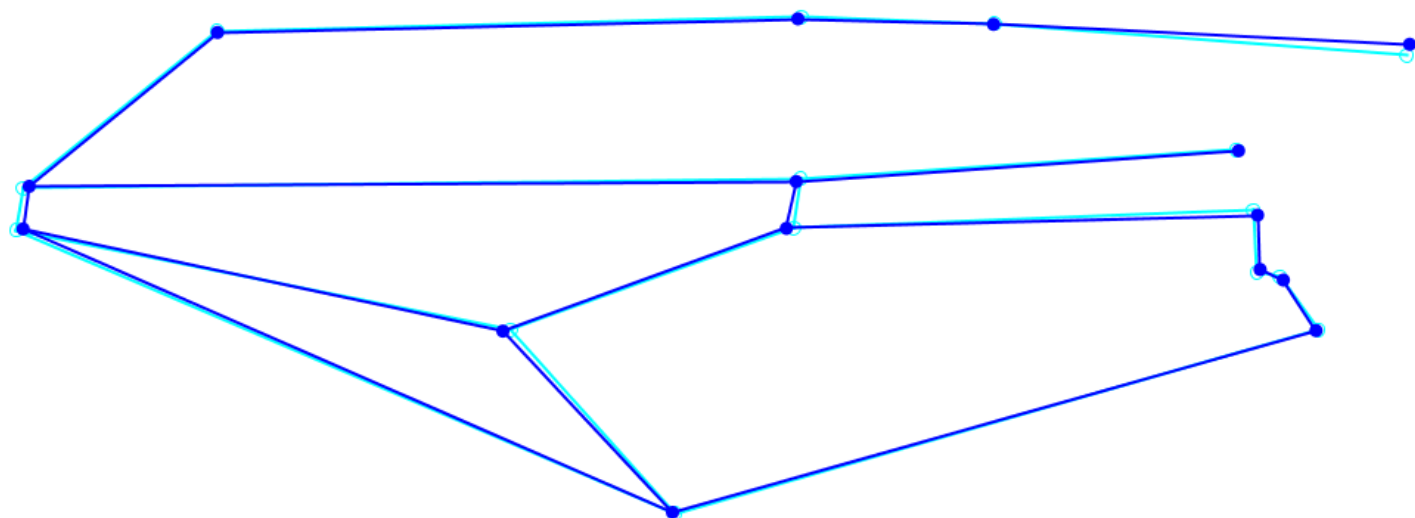
CAMPINAS x REPARTIMENTO



CAMPINAS x VILHENA

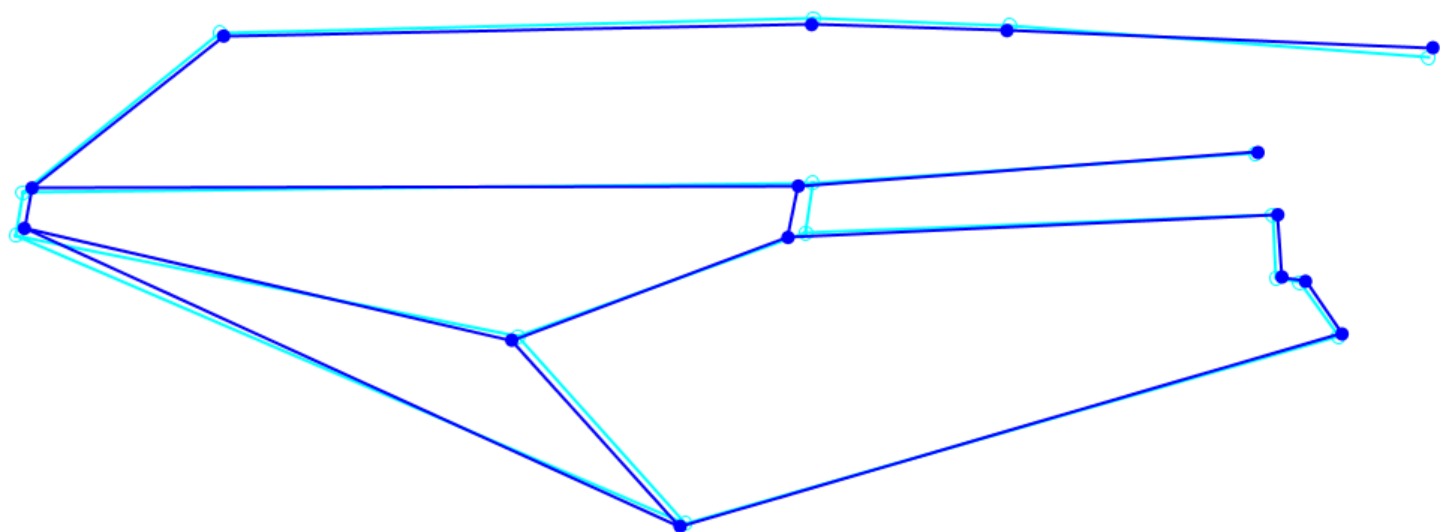


JUNDIAÍ DO SUL x LINHARES

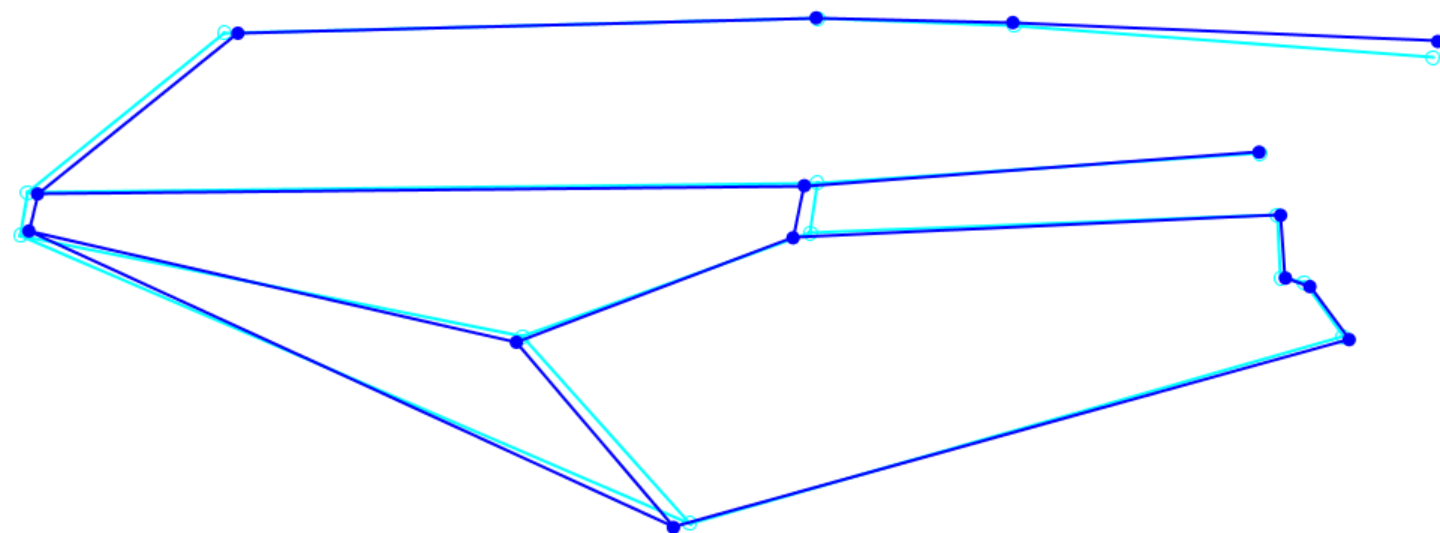




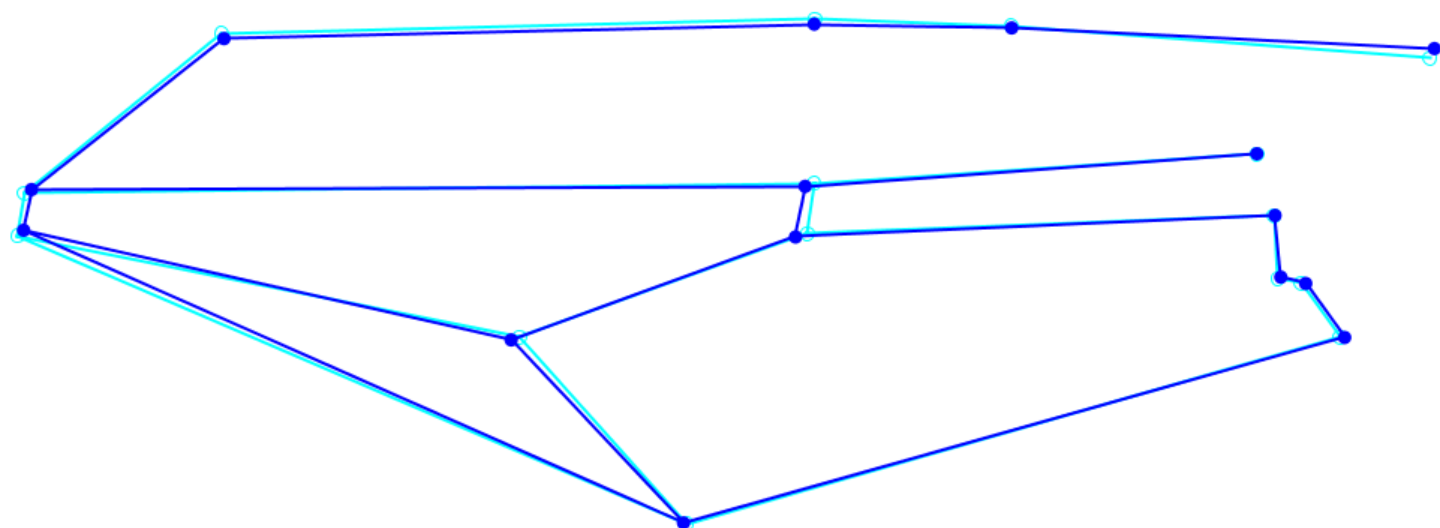
JUNDIAÍ DO SUL x MARACÁ



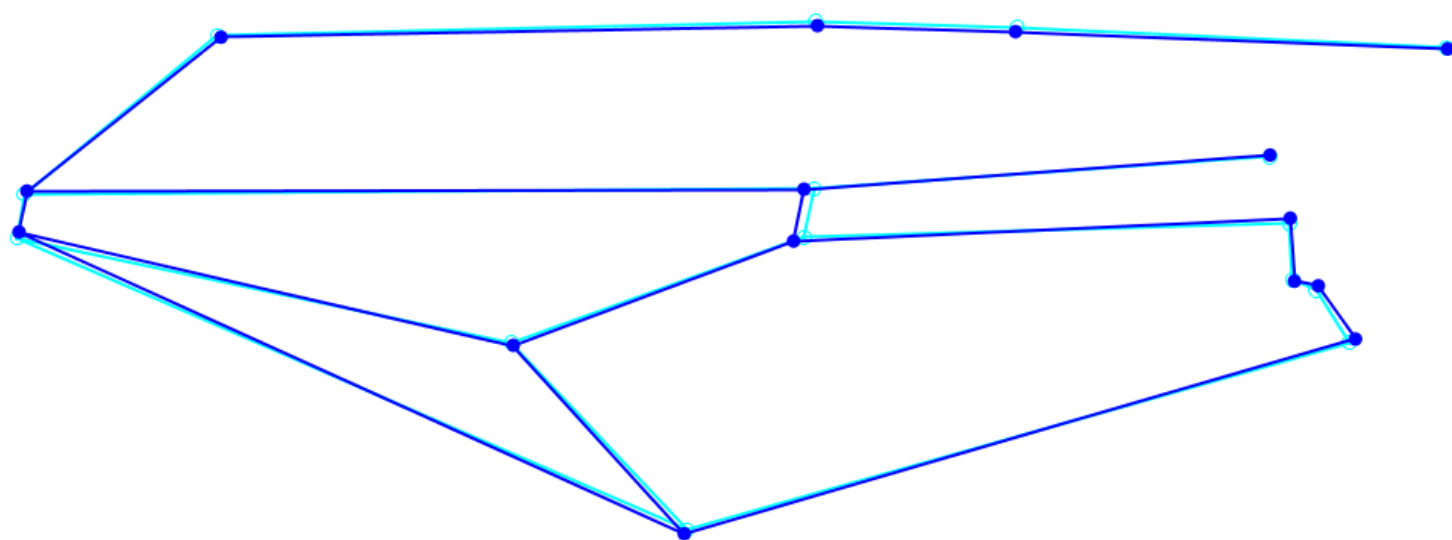
JUNDIAÍ DO SUL x REPARTIMENTO



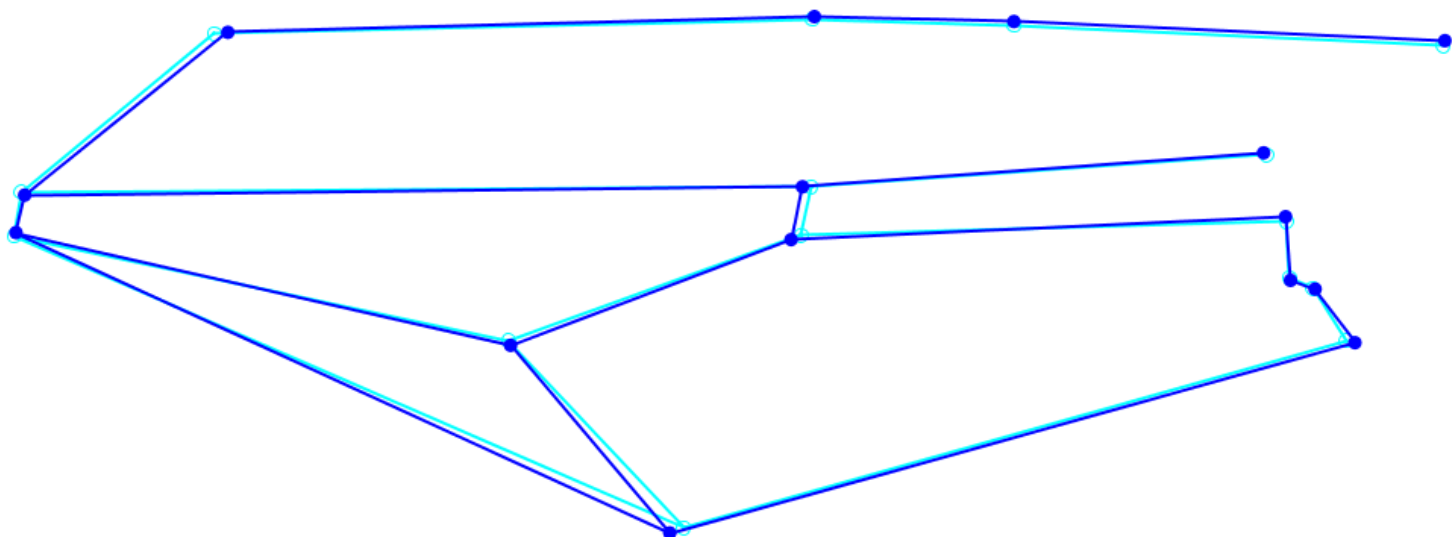
JUNDIAÍ DO SUL x VILHENA



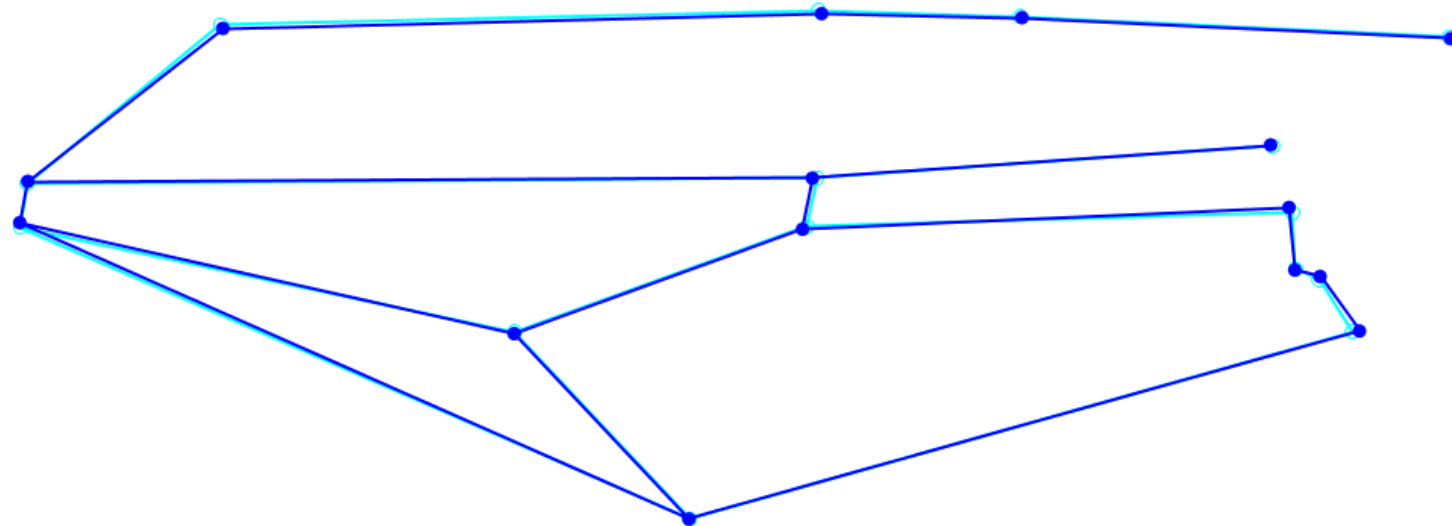
LINHARES x MARACÁ



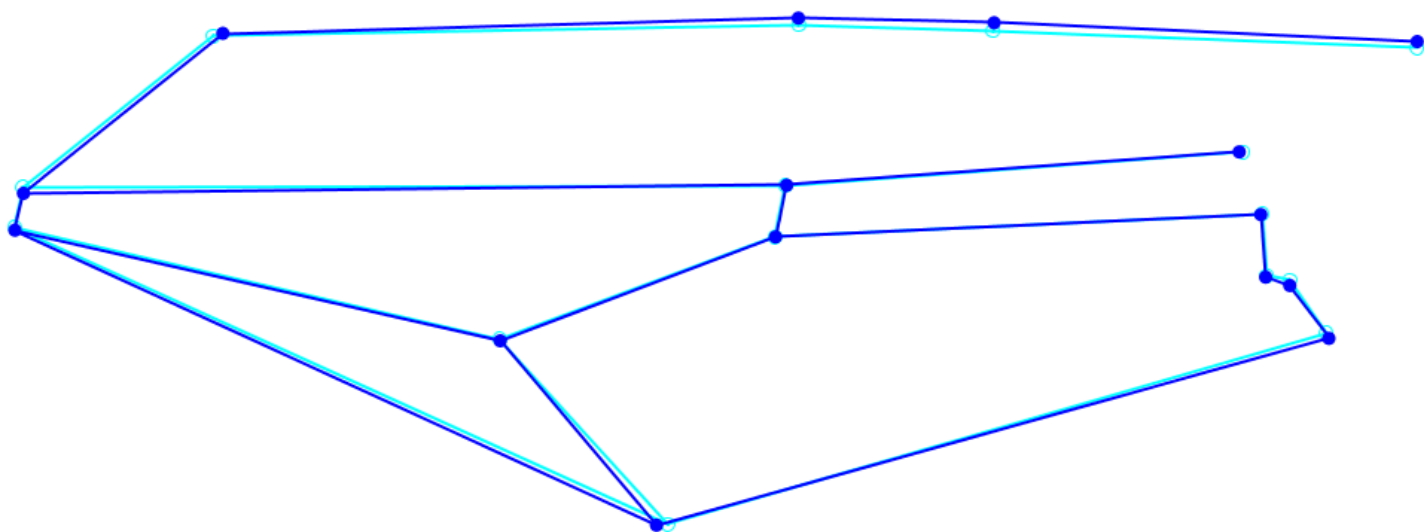
LINHARES x REPARTIMENTO



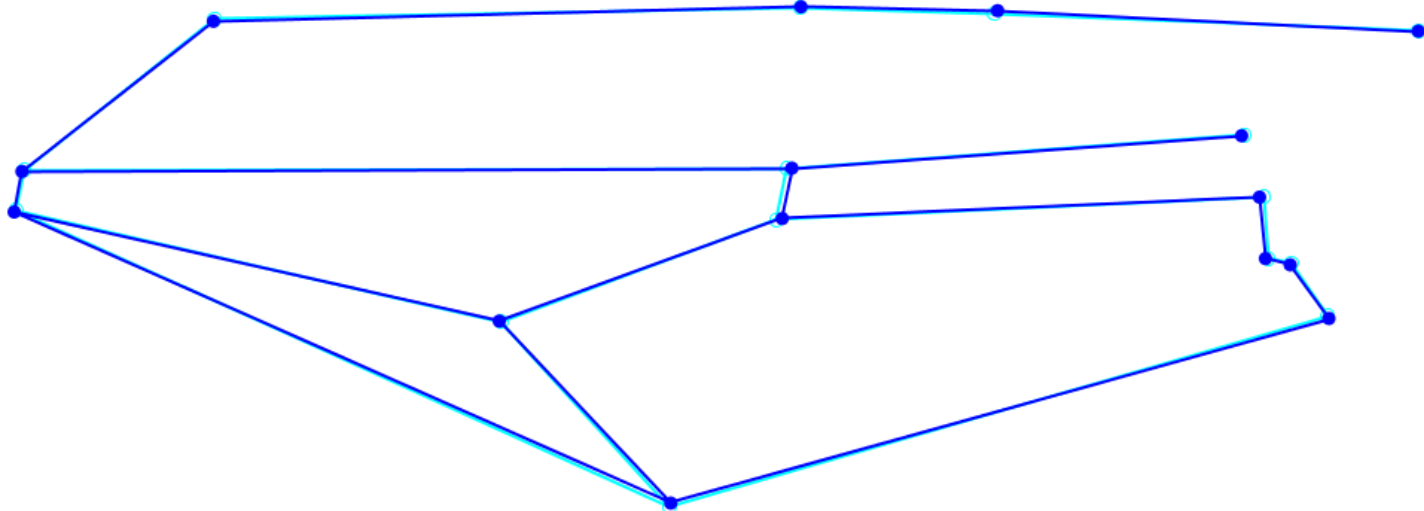
LINHARES x VILHENA



MARACÁ x REPARTIMENTO



MARACÁ x VILHENA



REPARTIMENTO x VILHENA

